

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE
PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA

Studijní program:

Biologie

Studijní obor:

Biologie



Veronika Blahnová

Vliv růstových faktorů a bioaktivních látek na diferenciaci mezenchymálních kmenových buněk

Effect of growth factors and bioactive substances on mesenchymal stem cell differentiation

Bakalářská práce

Vedoucí závěrečné práce: Mgr. Jana Benešová

Praha, 2014

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 13. 5. 2014

Podpis

Poděkování:

Chtěla bych velmi poděkovat své školitelce Mgr. Janě Benešové za připomínky, cenné rady, trpělivost a také za čas, který nad prací strávila. Také bych chtěla poděkovat svému příteli za podporu při psaní práce.

Abstrakt

Mezenchymální kmenové buňky (Mesenchymal Stem Cells, MSCs) jsou populací multipotentních buněk, které mají schopnost obnovovat poškozené tkáně pocházející z mezodermy. Mohou diferencovat např. do chondrocytů, osteocytů, adipocytů, myocytů či inzulin produkujících buněk, a to jak pod vlivem celé škály růstových faktorů, hormonů a dalších bioaktivních látek, tak i v závislosti na kontaktech se sousedními buňkami a extracelulární matrix. Tkáňové inženýrství hojně využívá zejména růstových faktorů. Růstové faktory fungují přes specifické povrchové receptory, které zprostředkovávají komunikaci mezi buňkami a mezibuněčnou hmotou a ovlivňují tak celou řadu buněčných procesů jako růst, proliferaci, diferenciaci a další. Díky specifickému účinku na buňky se v tkáňovém inženýrství, v závislosti na konkrétní aplikaci a typu tkáně, používají jak jednotlivě, tak v kombinacích. Látky stimulující buňky k proliferaci a optimální diferenciaci mohou být přidávány přímo do kultivačního média při kultivaci *in vitro*, nebo do nosiče, na který jsou buňky později nasazeny. Odhalení vlivu přesných kombinací a koncentrací jednotlivých růstových faktorů na diferenciaci MSCs by umožnilo efektivnější využití MSCs v oblasti regenerativní medicíny. Cílem této práce je shrnout dosavadní poznatky o vlivu růstových faktorů a dalších bioaktivních látek na diferenciaci a proliferaci mezenchymálních kmenových buněk.

klíčová slova: mezenchymální kmenové buňky, růstové faktory, diferenciaci

Abstract

Mesenchymal stem cells are a population of multipotent cells, which have the ability to restore damaged tissues derived from mesoderm. Under the influence of wide range of growth factors, hormones and other bioactive molecules they can differentiate for example into chondrocytes, osteocytes, adipocytes, myocytes or insulin producing cells. The differentiation is induced even by contacts with neighboring cells or with extracellular matrix. Tissue engineering often uses especially growth factors. Growth factors act through specific surface receptors, which mediate cell-to-cell and cell-to-extracellular matrix communication and influence many cellular processes such as growth, proliferation, differentiation and others. Due to their specific impact growth factors are used individually or in combinations in tissue engineering applications. Substances stimulating cells to proliferate and differentiate can be added right to the culture medium, when cultivated *in vitro*, or can be loaded into a scaffold onto which cells are later seeded. The determination of exact growth factors combinations and concentrations influence on MSCs differentiation would enable more efficient use of MSCs in regenerative medicine. The aim of this thesis is to summarise present knowledge about the effect of growth factors and other bioactive agents on differentiation and proliferation of mesenchymal stem cells.

key words: mesenchymal stem cells, growth factors, differentiation

Obsah

1	Úvod.....	2
2	Charakteristiky MSCs	3
3	Nika MSCs	3
4	Zdroje MSCs.....	5
5	Diferenciace MSCs	5
5.1	Chondrogeneze.....	7
5.1.1	Rodina TGF- β	7
5.1.2	Rodina FGF.....	8
5.1.3	IGF-1.....	8
5.2	Osteogeneze	9
5.2.1	Rodina TGF- β	9
5.2.2	Ostatní růstové faktory.....	10
5.2.3	Kombinace růstových faktorů podporující osteogenezi.....	10
5.2.4	Další faktory ovlivňující vznik osteoblastů.....	11
5.3	Tenogeneze	12
5.3.1	Faktory ovlivňující tenogenezi	13
5.4	Neurogeneze.....	13
5.4.1	Faktory ovlivňující neurogenezi	14
5.5	Hepatogeneze	15
5.5.1	Faktory ovlivňující hepatogenezi	15
5.6	Diferenciace v buňky slinivky břišní	16
5.6.1	Faktory ovlivňující diferenciaci v buňky slinivky břišní	17
6	Terapeutické využití MSCs	17
6.1	Poškození CNS.....	18
6.2	Onemocnění kostí.....	18
6.3	Osteoartritida.....	19
6.4	Kardiovaskulární onemocnění.....	19
6.5	Onemocnění jater	20
6.6	Onemocnění ledvin.....	20
7	Závěr	21
8	Použitá literatura	22

1 Úvod

Objev kmenových buněk je datován již do 19. století a to v pracích Julia Friedricha Cohnheima (Kaur and Kartha 2009), mezenchymální kmenové buňky (z anglického Mesenchymal Stem Cells, MSCs) byly popsány v práci A. J. Friedensteina v roce 1976 (Friedenstein, Gorskaja, and Kulagina 1976). Významné pokroky v této oblasti se však odehrály až v několika posledních desetiletích a jejich výzkumu se i nadále věnuje mnoho vědeckých skupin. Kmenové buňky jsou díky svým specifickým vlastnostem velkou nadějí pro regenerativní medicínu, a tedy pacienti trpící některou z nevyléčitelných nemocí jako jsou například diabetes prvního typu (Tang et al. 2004) nebo systémová sklerodermie (Christopeit et al. 2008).

Kmenovými můžeme nazývat buňky splňující tři základní charakteristiky: 1) mají schopnost sebeobnovy, 2) jsou nediferencované a 3) mohou dát vzniknout jiným buněčným typům (Dominici et al. 2006). Kmenové buňky mají několik stupňů diferenciačního potenciálu, který je popisován pomocí hierarchického modelu (Alison et al. 2002). Prvním stupněm jsou buňky totipotentní, tedy oplozený oocyt nebo zygota, ze kterých mohou vzniknout všechny pozdější tkáně, včetně samotného embrya a trofoblastu. O stupeň výše jsou pluripotentní buňky, které mohou diferencovat do jakékoli tkáně vyvíjející se ze všech tří zárodečných listů. Následují buňky multipotentní, které jsou předurčeny k produkci buněk pouze jednoho ze zárodečných listů – například mezenchymální kmenové buňky mohou diferencovat do buněčných typů odvozených z mezodermy, např. do buněk svalových (Pittenger et al. 1999) nebo nervových (Sago et al. 2008) (Obr. 1). Mezenchymální kmenové buňky mohou být izolovány z mnoha typů tkání, především z kostní dřeně, tukové tkáně, svalů, periferní nebo pupečnickové krve a placenty (Cutler and Antin 2001); (Wakitani, Saito, and Caplan 1995). Buněčným typem s nejmenším diferenciačním potenciálem jsou buňky unipotentní (také progenitorové), které dávají vzniknout pouze buňkám svého vlastního typu (Weissman 2000). Příkladem mohou být buňky gliové.

2 Charakteristiky MSCs

Mezenchymální kmenové buňky patří do skupiny buněk multipotentních, mohou se tedy vyvíjet do mnoha buněčných typů (Dominici et al. 2006) a jsou také zodpovědné za regeneraci poškozených tkání v organismu (Weissman 2000). I díky relativně snadnému způsobu získávání a izolace jsou tyto buňky vhodnými kandidáty pro využití v buněčné a genové terapii a při léčbě některých typů nádorů nebo autoimunitních onemocnění.

V heterogenní populaci buněk můžeme MSCs rozpoznávat na základě pozitivní či negativní exprese určitých povrchových markerů (pozitivní a negativní markery) (Kolf, Cho, and Tuan 2007). V současnosti se však potýkáme s nedostatečnou znalostí těchto markerů, pomocí kterých bychom mohli s jistotou určit, zda se jedná o MSCs. Dosud nejznámějším pozitivním markerem MSCs je Stro-1. Buněčné populace, které ho neexprimují, nejsou schopné tvořit kolonie (Simmons and Torok-Storb 1991) a nediferencují do fibroblastů, buněk hladké svaloviny, adipocytů, osteoblastů a chondrocytů (Dennis et al. 2002). Nicméně Stro-1 pravděpodobně není obecným markerem MSCs a to ze tří důvodů: 1) nebyl nalezen analog této molekuly u myši, 2) jeho přítomnost není výlučnou vlastností MSCs a 3) s rozšiřováním kultury MSCs exprese tohoto markeru klesá (Gronthos et al. 2003). Pro určení populace MSCs je tedy lepší používat Stro-1 ve spojení s dalším pozitivním markerem. Například s molekulou CD106, též VCAM-1 (vascular cell adhesion molecule-1), exprimovanou na povrchu endotelu cév (Heidemann et al. 2006). Molekula CD106 má pravděpodobně vliv na funkci MSCs, protože hraje roli při buněčné adhezi, chemotaxi a signální transdukcii (Carter and Wicks 2001). Kombinace Stro-1 a CD106 je tedy poměrně dobrým a spolehlivým určovatelem lidských MSCs. Mezi molekuly, které naopak nejsou mezenchymálními kmenovými buňkami exprimovány nikdy, řadíme CD11b (marker imunitních buněk), glycophorin-A (marker erytroidní buněčné linie) nebo CD45 (marker všech hematopoetických buněk) (Pittenger et al. 1999).

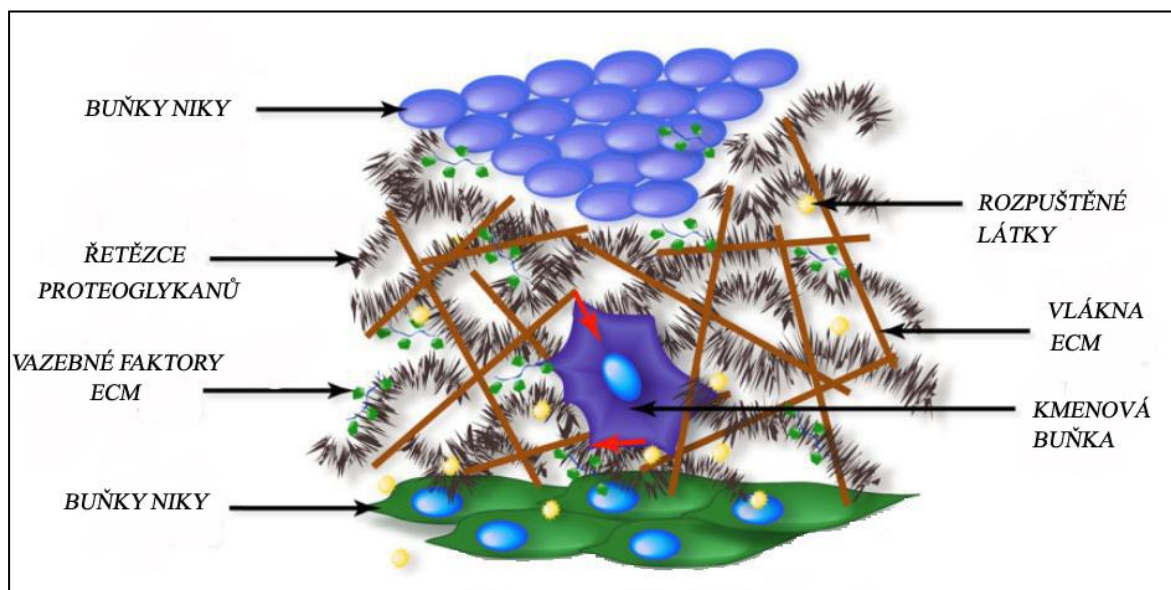
3 Nika MSCs

Pro výzkum kmenových buněk a jejich diferenciaci má velký význam i jejich původ. MSCs jsou v současné době běžně izolovány z kostní dřeně mnoha savčích modelových organismů (Otsuru et al. 2013) a z dalších tkání mezodermálního původu jako například z tkáně tukové (Ghorbani, Jalali, and Varedi 2014). Ve studiích z posledních let jsou u myši popisovány izolace multipotentních buněk i z tkání, které nejsou mezodermálního původu – z mozku, jater, ledvin nebo slinivky (Hirschi and D'Amore 1996); (da Silva Meirelles, Chagastelles, and Nardi 2006), přičemž všechny mají podobnou morfologii a vlastnosti i po několika pasážích.

Vzniká tedy otázka existence typického prostředí *in vivo*, kde se vyskytují mezenchymální kmenové buňky. Jako první přišel s myšlenkou „niky“ kmenových buněk Schofield v roce 1978 (Schofield 1978) a od té doby je tato teorie hojně podporována. Nika je tedy chápána jako oblast

bezprostředně obklopující kmenové buňky, které jsou udržovány v naivním stavu. Nika zahrnuje jak extracelulární matrix (ECM), tak i okolní nekmenové buňky a všechny rozpuštěné látky a signální molekuly, pomocí nichž jsou kmenovým buňkám předávány informace o tom, kde jsou potřebné (Obr. 1). Na základě některých studií, ve kterých bylo dokázáno, že MSCs exprimují α SMA (α -smooth muscle actin) bez ohledu na to z jaké tkáně byly izolovány (da Silva Meirelles, Chagastelles, and Nardi 2006), panují domněnky o perivaskulárním původu niky. Podporují je i zjištění, že MSCs byly pomocí markerů Stro-1 a CD146 lokalizovány v okolí krevních cév v lidské kostní a zubní dřeni (Shi and Gronthos 2003). Umístění MSCs okolo cév v celém těle by bylo výhodné, protože kmenové buňky by tak měly snadný přístup ke všem tkáním. K ověření této teorie je však třeba provést další studie.

Dalším důležitým faktorem v nice je přítomnost kyslíku v určité koncentraci. Experimentálně bylo zjištěno, že buňky kultivované v hypoxických podmínkách (2 % kyslíku) mají mnohem lepší proliferační kapacitu než buňky kultivované v podmínkách normoxických (20 % kyslíku) (Grayson et al. 2006). Role jednotlivých proteinů sekretovaných v nice není zatím zcela jasná. Pokud by bylo objasněno, které ze signálních molekul a proteinů ovlivňujících kmenové buňky umožňují jejich proliferaci a zároveň inhibují diferenciaci, bylo by možné napodobit podmínky v nice a zajistit tak růst kmenových buněk *ex vivo*. Nicméně bylo zjištěno, že i samotná ECM může mít vliv na regulaci diferenciaci buněk (Verfaillie et al. 1999). Této skutečnosti je využíváno v oblasti tkáňového inženýrství. Z nanovláken vytvářené „lešení“ (tzv. scaffold) má za úkol napodobovat přirozené mikroprostředí v nice a podporovat tak buňky v proliferaci. Jsou však potřebné další studie pro objasnění komunikace MSCs s ECM, která pravděpodobně probíhá zejména pomocí kadherinů a integrinů (Simmons, Levesque, and Zannettino 1997).



Obrázek 1: Mechanické a biofyzikální jevy v nice kmenových buněk. Převzato a upraveno z Conway and Schaffer (2012).

4 Zdroje MSCs

Tkáně, ze kterých lze získávat mezenchymální kmenové buňky můžeme dělit na tkáně fetální, uplatňující se ve vývoji jedince před jeho narozením, a adultní, tedy buňky dospělého jedince. Z fetálních tkání můžeme uvést pupečnickovou krev (Harris and Rogers 2007) nebo tzv. Whartonovu želatinu (Messerli et al. 2013), což je rosolovitá hmota obalující pupečnickové tepny a žílu v pupeční šňůře. Mezenchymální kmenové buňky se podařilo izolovat i z mnoha adultních tkání, kromě jiných například i ze srdce (Beltrami et al. 2003), plic (Griffiths, Bonnet, and Janes 2005) či svalů (Yoshimura et al. 2007). Mezi nejčastěji využívané zdroje adultních MSCs však patří kostní dřev, z níž buňky poprvé izoloval Friedenstein (Friedenstein, Gorskaja, and Kulagina 1976), dále tuková tkáň (Fraser et al. 2006) a periferní krev (Zvaifler et al. 2000).

Izolace kmenových buněk z kostní dřev je nejběžnější, samotný odběr kostní dřev však pro pacienta představuje poměrně invazivní a bolestivou proceduru, navíc s rizikem vzniku infekce. Běžně používanou metodou je centrifugace, kdy k oddělení jednotlivých frakcí dochází na základě hustotního gradientu (Pittenger et al. 1999). Pro izolaci buněk z tukové tkáně se obvykle používá biologický materiál odebraný při liposukci, k němuž je přidána kolagenáza a následně je suspenze buněk centrifugována a promývána (Kuhbier et al. 2010). Z periferní krve jsou MSCs získávány z frakce mononukleárních buněk po centrifugaci (Cao, Dong, and Dong 2005).

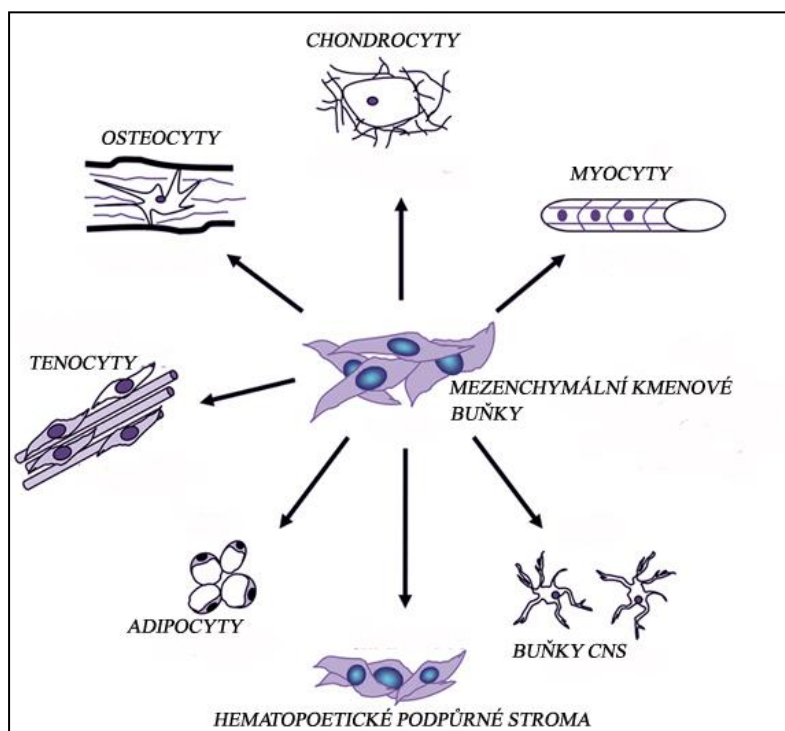
V závislosti na zdroji, ze kterého jsou izolovány, se od sebe jednotlivé skupiny MSCs liší diferenciačním potenciálem, tedy buněčnými typy, do kterých mohou diferencovat. Nejvyšší diferenciační potenciál mají MSCs izolované z kostní dřev, následují buňky ze svaloviny, tukové tkáně, periferní krve a synoviální membrány (Tuan, Boland, and Tuli 2003). U lidských mezenchymálních kmenových buněk bylo prokázáno, že jejich schopnost diferenciace a míra proliferace klesá s rostoucím věkem dárce (Fehrer and Lepperdinger 2005).

5 Diferenciace MSCs

Vývoj kmenových buněk v některý z buněčných typů je regulován transkripčními a dalšími genetickými faktory, jejichž aktivace je mimo jiné zajišťována specifickými polypeptidy – tzv. růstovými faktory. Růstové faktory mohou buněčné funkce modulovat působením apokrinním (kdy je ovlivňována sama buňka, ze které růstový faktor pochází nebo buňky se stejným fenotypem), parakrinním (růstový faktor ovlivňuje buňky okolní s odlišným fenotypem) nebo endokrinním (růstový faktor ovlivňuje buňky ve vzdálené části těla). Diferenciace do určitého fenotypu může být kontrolována i regulačními geny, které indukují diferenciaci progenitorových buněk do daného buněčného typu. Kromě růstových faktorů a dalších biomolekul je diferenciace podporována specifickým mikroprostředím, *in vitro* napodobitelným různými typy scaffoldů, které buňkám poskytují náležité podmínky pro diferenciaci a proliferaci (Ding, Shyu, and Lin 2011). Přestože MSCs

zdanlivě dokáží *in vitro* diferencovat do celé řady tkání, výsledné buněčné populace nevykazují biochemické a biomechanické vlastnosti zcela shodné s tkání cílovou (Hwang et al. 2009).

Bylo prokázáno, že MSCs mohou *in vitro* diferencovat do kostí (Bruder, Jaiswal, and Haynesworth 1997), chrupavky (Kadiyala et al. 1997), nervových, jaterních a pankreatických buněk (Patel, Shah, and Srivastava 2013), šlach (Young et al. 1998), svaloviny (Ferrari et al. 1998), tukové tkáně (Dennis et al. 1999), hematopoetického podpůrného stroma (Prockop 1997) a do ledvinných tubulárních epitelálních buněk (Singaravelu and Padanilam 2009) (Obr. 2). Tato práce je však zaměřena především na chondrogenezi, osteogenezi, tenogenezi, diferenciaci do nervových, jaterních a pankreatických buněk a využití nově vzniklých buněčných typů v regenerativní medicíně.



Obrázek 2:

Mezenchymální kmenové buňky mohou diferencovat do chondrocytů, osteocytů, tenocytů, myocytů, adipocytů, buněk CNS a hematopoetického podpůrného stroma. Převzato a upraveno z Johnston (2012).

Diferenciace mezenchymálních kmenových buněk nezávisí však pouze na použitém růstovém faktoru, ale i na konkrétních kultivačních podmínkách jako je například přesná koncentrace GFs a dalších přídavných látek, vystavení buněk tlaku nebo tahu nebo konkrétní typ MSCs. Ten samý růstový faktor může vést buňky k vývoji do několika různých linií v závislosti na konkrétních použitých podmínkách. Běžně používaným přídavkem do osteogenního media je dexamethason s kyselinou askorbovou (Aenlle et al. 2014) a indukci neurogenní diferenciace je možné navodit například kombinací dimethylsulfoxidu a hydroxylanisolu (Mezey et al. 2000).

5.1 Chondrogeneze

Diferenciace MSCs v buňky chrupavky je ovlivňována mnoha vnějšími i vnitřními činiteli. Zásadní roli v tomto procesu hrají růstové faktory, s nimiž se seznámíme v následujícím textu. Hlavní funkcí růstových faktorů nejen v chrupavčité tkáni je kontrola jejího vývoje a regulace homeostázy a integrity (Fortier et al. 2011). Velmi důležitou funkci má i mikroprostředí a extracelulární matrix, která tvoří většinu chrupavčité tkáně.

5.1.1 Rodina TGF- β

Růstové faktory náležící do této rodiny pravděpodobně patří mezi nejvíce studované bioaktivní molekuly v oblasti tkáňových náhrad chrupavky. Díky tomu je poměrně dobře znám mechanismus jejich působení. TGF- β (z anglického transforming growth factor) se váží na receptory serin-threonin kinázy na povrchu buňky a aktivují tak specifické dráhy spouštějící transkripci genů, které ovlivňují proliferaci a diferenciaci buněk (Bessa, Casal, and Reis 2008). S ohledem na chondrogenezi *in vitro* se jako nejnadějnější jeví využití kombinace TGF- β 1, TGF- β 3, BMP-2, BMP-4, BMP-7 a GDF-5 (Hatakeyama, Tuan, and Shum 2004).

Experimentální studie dokládají po použití TGF- β 1 zvýšenou proliferaci a chondrogení diferenciaci MSCs (Havlas et al. 2011). Danisovicovi et al. (2007) se podařilo prokázat, že aplikace TGF- β 1 vede ke snížení genové exprese pro kolagen typu I a naopak ke zvýšení exprese genů kódujících typické komponenty hyalinní chrupavky - kolagen typu II a agrecan. Dalším růstovým faktorem z rodiny TGF- β je BMP (z anglického bone morphogenetic protein), který tvoří homodimerní molekuly. BMP hraje zásadní roli v procesech chondrogeneze a osteogeneze *in vivo* (Bessa, Casal, and Reis 2008). BMP-2 vede, stejně jako TGF- β 1, ke zvýšení produkce chrupavčité extracelulární matrix a ke snížení exprese genů pro kolagen typu I. Schopnost indukovat produkci chrupavčité extracelulární matrix obsahující glykosaminoglykany, která byla detekována při použití TGF- β 3 (Thorpe et al. 2010), byla signifikantně zlepšena s přídavkem BMP-2 (Rui et al. 2010).

Další signální molekulou, jejíž vliv na MSCs byl důkladně studován, je protein BMP-4, který vykazujeschopnost indukovat osteogenezi a chondrogenezi *in vivo*,. I když bylo prokázáno, že pro indukci diferenciace v chondrocyty je vhodnější BMP-2 (Sekiya et al. 2005), bylo doloženo, že i BMP-4 stimuluje produkci chrupavčité matrix. BMP-4 podporuje syntézu kolagenu typu II a agrecanu a tlumí syntézu kolagenu typu I a X (Miljkovic, Cooper, and Marra 2008).

Další z proteinů náležících do rodiny TGF- β je BMP-7, známý i pod názvem osteogenní protein-1. Experimenty s MSCs ukázaly, že BMP-7 tlumí jejich proliferaci a zároveň stimuluje produkci chrupavčité tkáně (An et al. 2010). Tato schopnost může být zesílena použitím kombinace BMP-7 s TGF- β 1 a IGF-1.

Růstové diferenciační faktory (GDF, z anglického growth differentiation factors), které patří také do rodiny TGF- β , se uplatňují především ve vývoji organismů (Basler et al. 1993). Skupina GDF

má nejméně 15 členů, ale potenciál pro využití v oblasti tkáňových náhrad chrupavek má pravděpodobně pouze GDF-5. GDF-5 je signální molekula exprimovaná v rozvíjejícím se centrálním nervovém systému, která má důležitou úlohu ve vývoji kostry a kloubů (O’Keeffe, Dockery, and Sullivan 2004). Studie ukázala, že GDF-5 dokáže posílit chondrogenní diferenciaci MSCs (Feng et al. 2008) a zvýšit expresi transkripčního faktoru Sox9, který hraje významnou roli při diferenciaci a maturaci chondrocytů (Kou and Ikegawa 2004).

5.1.2 Rodina FGF

FGF (z anglického fibroblast growth factor) jsou heparin-vázající polypeptidy účastníci se mnoha buněčných událostí, mimo jiné proliferace, diferenciaci a pohybu a ovlivňující procesy při embryogenezi, angiogenezi a hojení poranění (Danišovič, Varga, and Polák 2012). U obratlovců bylo identifikováno 23 členů této rodiny, FGF-1 až FGF-23 (Itoh and Ornitz 2011). V kontextu možné chondrogenní diferenciaci MSCs byly studovány FGF-2 a FGF-18 (Ellman et al. 2008).

FGF-2, také známý jako bFGF, se vyskytuje uvnitř struktury extracelulární matrix hyalinní chrupavky. Tento růstový faktor podporuje proliferaci chondrocytů *in vivo*. Bylo také ukázáno, že FGF-2 působí preventivně proti poškození chrupavky a vzniku osteoartritidy (Ge et al. 2006). MSCs kultivované v médiu obsahujícím FGF-2 na rozdíl od kontrolních buněk vykazovaly zvýšený chondrogenní potenciál, rychleji proliferovaly a obsahovaly více proteoglykanu (Solchaga et al. 2005). Kromě toho MSCs nasazené na hydrogelu a vystavené působení FGF-2 tvořily hustší chrupavčitou tkáň než kontrolní skupina bez FGF-2 a produkovaly větší množství kolagenu typu II a glycosaminoglykanů (Park and Na 2008).

Výzkumu vlivu FGF-18 se věnovalo méně pozornosti, přesto ale přinesl důležité výsledky. Je zapojen do mnoha procesů v organismu jako je embryonální vývoj, růst buněk, morfogeneze, růst nádorů a oprava poškozených tkání (Danišovič, Varga, and Polák 2012). Podávání FGF-18 přímo do chrupavky u krys s rozvinutou osteoartritidou vedlo k zlepšení stavu (Moore et al. 2005). Výsledky, které přinesly studie s MSCs, ukazují, že FGF-18 tlumí jejich proliferaci a podporuje diferenciaci a produkci chrupavčité matrix (Davidson et al. 2005).

5.1.3 IGF-1

Molekula IGF-1 (z anglického insuline like growth factor) je svou sekvencí podobná molekule inzulinu a je známá také pod názvem somatomedin C. Je důležitý v embryonálním vývoji a postnatálně plní roli jednoho z hlavních faktorů regulujících růst organismu (Liu et al. 1993). Vliv IGF-1 na MSCs byl pečlivě studován. Bylo ukázáno, že moduluje chondrogenезi prostřednictvím podpory proliferace, regulace apoptózy a indukce exprese genů důležitých pro fenotyp chondrocytů (Longobardi et al. 2006). Tento efekt je nezávislý na TGF- β signalizací. Ke zvýšené produkci

chrupavčité matrix u MSCs došlo při použití kombinace IGF-1 s dalšími růstovými faktory, především s TGF- β 1, BMP-2 a BMP-7 (An et al. 2010).

5.2 Osteogeneze

Kost je tuhá tkáň skládající se zejména z kolagenu typu I, proteinů a krystalů hydroxyapatitu. Její formování, *in vitro* i *in vivo*, zahrnuje tři stádia: chemotaxi a proliferaci progenitorových buněk, diferenciaci v osteoblasty, které sekretují složky extracelulární matrix, a mineralizaci matrix (Huang et al. 2007). Diferencované osteoblasty jsou spolu s růstovými faktory zásadní pro hojení kostí a jejich regeneraci. Růstové faktory jsou obvykle skladovány v extracelulární matrix, z níž jsou po poranění aktivně uvolňovány, stejně jako z okolních buněk a krevních destiček (Einhorn 1998). Hlavní růstové faktory účastníci se osteogeneze jsou BMP, TGF- β , FGF, PDGF, VEGF a IGF (Devescovi et al. 2008). Vzájemně se ovlivňují a jsou podávány v různých fázích buněčného cyklu samostatně nebo v kombinacích tak, aby bylo při indukci osteogeneze dosaženo co nejlepšího efektu. V *in vitro* studiích bylo prokázáno, že VEGF a IGF-1 byly produkovány především ve fázi proliferace buněk a FGF-2 a BMP-2 byly exprimovány ve fázi diferenciace a maturace buněk (Huang et al. 2007).

5.2.1 Rodina TGF- β

TGF- β má celkem 4 izoformy – β 1, β 2, β 3 a β 4, které se uplatňují v různých procesech při hojení zlomenin a regeneraci kostí (Rosier, O’Keefe, and Hicks 1998). TGF- β 1 aktivuje signalizační dráhu β -kateninu, která vede k diferenciaci MSCs v osteoblasty (Zhou 2011).

BMP-2 je v souvislosti s osteogenezí nejstudovanějším růstovým faktorem z rodiny BMP. Indukuje osteogenní diferenciaci MSCs do osteoblastů (Kim et al. 2013). Pountos et al. (2010) ukázali, že při podávání BMP-2 byl osteogenní potenciál lidských MSCs až třikrát vyšší než u buněk neovlivněných růstovým faktorem. Stejných výsledků dosáhli i při použití BMP-7. BMP-2 a BMP-7 jsou navíc schváleny FDA (z anglického Food and Drug Administration – Úřad pro kontrolu potravin a léčiv) pro podávání při léčbě poranění páteře (Freire et al. 2011). Při podávání rekombinantního BMP-4/7 byla u králíčích MSCs izolovaných z kostní dřeni pozorována nižší proliferace, ale vyšší osteogenní diferenciace (Yuan, Pan, Liu, et al. 2011) – porovnávalo s kontrolní skupinou kultivovanou bez přídavku růstového faktoru. Také pro BMP-9 probíhají *in vitro* a *in vivo* studie k získání dalších poznatků o schopnosti indukovat osteogenní diferenciaci mezenchymálních kmenových buněk (Luther et al. 2011).

5.2.2 Ostatní růstové faktory

Růstový faktor HGF (z anglického hepatocyte growth factor) reguluje růst buněk, jejich pohyb a morfogenezi prostřednictvím aktivované tyrosin kinázy (Bottaro et al. 1991) a uplatňuje se v procesech angiogeneze, tumorigeneze a regenerace tkání (Jia et al. 2013). Aenlle et al. (2014) ve své studii prokázali, že HGF podporuje osteogenní diferenciaci lidských MSCs prostřednictvím aktivace transkripce osteogenních markerů osteokalcinu, osteoprotegerinu a osterixu a také, že je nepostradatelnou molekulou při mineralizaci osteoblastů.

Kost je na rozdíl od chrupavky bohatě vaskularizovaná. Přítomnost VEGF (z anglického vascular endothelial growth factor) regulujícího vznik nových cév je tedy pro správný průběh osteogenní diferenciaci MSCs naprosto zásadní (Shibuya 2006). Tato molekula je do osteogeneze zapojena podporováním přežití osteoprogenitorových buněk a chemotaktickým přitahováním hlavních buněk formujících kost (Kempen et al. 2009).

bFGF reguluje proliferaci, diferenciaci a míru mineralizace kostních buněk (Huang et al. 2010). FGF je také klíčovým regulátorem maturace osteoblastů a inhibice jeho receptoru FGFR1, tedy vede k zablokování osteogeneze (Jackson, Nurcombe, and Cool 2006). Ito et al. (2008) ve své studii ukázali, že FGF-2 zvyšuje u lidských MSCs expresi kolagenu typu II a X, což vede ke vzrůstu jejich osteogenního potenciálu.

Tento růstový faktor funguje jako látka navozující mitózu pro buňky mezenchymálního a neuro-ektodermálního původu (Ross, Bowen-Pope, and Raines 1990). Pokud je PDGF (z anglického platelet derived growth factor) podáván ve vysokých dávkách, navozuje jak proliferaci tak osteogenní diferenciaci lidských mezenchymálních kmenových buněk (Pountos et al. 2010).

Myši, u nichž byl receptor pro IGF přítomný jen v některých tkáních nebo se nevyskytoval vůbec, vykazovaly zpožděný embryonální vývoj kostry, nízkou úroveň mineralizace kostí a prodlouženou dobu hojení zlomenin (Wang et al. 2006). Stejně tak u lidí bylo prokázáno, že koncentrace IGF-1 pozitivně koreluje s mírou mineralizace kostí a negativně s četností zlomenin (Langlois et al. 1998). U kmenových buněk izolovaných z vrcholku kořene zubu došlo vlivem IGF-1 ke zvýšení jejich proliferace, aktivity alkalické fosfatázy a mineralizace (Wang et al. 2012).

5.2.3 Kombinace růstových faktorů podporující osteogenezi

Jak již bylo zmíněno, pro co nejlepší efekt diferenciaci MSCs v daný buněčný typ se jako optimální jeví použití kombinace několika růstových faktorů. Například Bai et al. (2013) ve své studii na krysách podali důkaz, BMP-2, VEGF a bFGF společně podporují osteogenní diferenciaci MSCs již ve velmi nízkých koncentracích. Diferenciaci v osteoblasty je výrazně zvýšena, pokud jsou VEGF a bFGF přidány do kultury v brzké fázi proliferace (v prvních 7 dnech) a BMP-2 naopak v pozdní fázi diferenciaci (v posledních 7 dnech).

Růstové faktory BMP-2 a bFGF byly aplikovány v různých vzájemných poměrech a jejich vliv byl zkoumán na MSCs izolovaných z kostní dřeně krys (Wang et al. 2010). Nejsilnější proliferace byla pozorována po aplikaci BMP-2 a bFGF v poměru 2:1. Míra diferenciaci MSCs v buňky kostí byla zjišťována imunobarvením alkalické fosfatázy, které bylo nejvíce v buňkách ovlivněných BMP-2 a bFGF v poměru 2:1 a 1:1.

Společné působení BMP-4/7 a bFGF na králičí mezenchymální kmenové buňky indukovalo výrazně zvýšenou proliferaci i osteogenní diferenciaci (Yuan, Pan, Fu, et al. 2011).

Při studiu osteogenní diferenciaci lidských MSCs po aplikaci BMP-6 a VEGF bylo pozorováno zesílení mineralizace a exprese alkalické fosfatázy (Zhang et al. 2012). Pokud byly buňky ovlivněny jen jedním z růstových faktorů, takových výsledků dosaženo nebylo.

5.2.4 Další faktory ovlivňující vznik osteoblastů

Hypoxie

Krátkodobá hypoxie je přirozenou součástí procesu hojení zlomenin *in vivo*. Fyziologická koncentrace kyslíku je v kostní tkáni kolem 12,5 % (Heppenstall, Grisli, and Hunt 1975). Po poranění klesá jeho hladina k 1 % následkem porušení existujících krevních cév. Tento nedostatek O₂ trvá do doby, než pod vlivem růstových faktorů vzniknou cévy nové – časově omezená hypoxie vyvolává zvýšenou expresi VEGF, bFGF a TGF-β (Potier et al. 2007). Byla provedena celá řada studií, které měly ověřit vliv hypoxie na diferenciaci mezenchymálních kmenových buněk. Jejich výsledky však nejsou zcela jednoznačné. Někteří výzkumníci došli k závěru, že nedostatek kyslíku vede ke snížené schopnosti osteogenní diferenciaci a podporuje zachování buněk v nediferencovaném stavu (Fehrer et al. 2007). Oproti tomu Tsai et al. (2011) ukázali, že hypoxie navozuje kromě chondrogenese a adipogenese také osteogenezi a že buňky kultivované v hypoxických podmínkách mají zvýšenou schopnost reparace kosti. V jiné studii byly lidské MSCs experimentálně vystaveny hypoxii (<2 % O₂) po dobu dvou týdnů, přičemž bylo zjištěno, že nedostatek kyslíku potlačuje adipogenezi, ale podporuje osteogenezi (Wagegg et al. 2012).

Glukóza

V praxi se s vlivem glukózy na osteogenezi setkáváme u pacientů trpících diabetem, kteří mají následkem hyperglykemie zvýšené riziko vzniku osteoporózy (Strotmeyer et al. 2006). Vysoká hladina glukózy totiž zvyšuje míru apoptózy (Stolzinger, Coleman, and Scutt 2006). Efekt zvýšené hladiny glukózy na proliferaci a osteogenní diferenciaci mezenchymálních kmenových buněk byl zkoumán například u myši (Juncheng et al. 2013). Glukóza v koncentraci <25 mM sice podporovala růst buněk, ale potlačovala jejich mineralizaci a blokovala signální dráhu BMP. Podáváním exogenního BMP-2 však došlo k obnovení osteogenního potenciálu MSCs a exprese kostních markerů

(Runx2 nebo alkalické fosfatázy) i za podmínek hyperglykemie. V jiném experimentu byly lidské MSCs kultivovány v médiu s 17,6 mM a 25 mM glukózou (Li et al. 2007). Závěrem bylo zjištění, že zvýšená hladina glukózy stimuluje jak proliferaci tak osteogenezi MSCs. Vliv glukózy na mezenchymální kmenové buňky se tedy pravděpodobně odvíjí od jejich typu a konkrétních kultivačních podmínek.

Deriváty chondroitin sulfátu

Stejně jako samotný chondroitin sulfát patří i jeho deriváty do rodiny glykosaminoglykanů a skládají se z molekul kyseliny glukuronové a N-acetylgalaktosaminu, na který se navazují molekuly síry. V organismu bychom ho našli především v chrupavce a v dalších pojivových tkáních. Büttner et al. (2013) se ve své studii zabývali vlivem chondroitin-sulfátu a jeho derivátů na osteogenezi lidských mezenchymálních kmenových buněk. Zjistili, že chondroitin-sulfát dokáže indukovat osteogenní diferenciaci MSCs pravděpodobně nezávisle na signálních drahách BMP-2 a TGF- β 1.

Taurin

Taurin (kyselina 2-aminoethansulfonová) je organická kyselina vyskytující se ve vysokých koncentracích v savcích tkáních (Wang et al. 2011). V organismu působí jako antioxidant a reguluje osmózu a pohyb iontů (Rahman et al. 2011). Bylo doloženo, že taurinový transporter se vyskytuje u hlodavčích a lidských primárních osteoblastů (Yuan et al. 2006). Při působení na tkáň kosti zvyšuje aktivitu alkalické fosfatázy (ALP) a sekreci osteokalcinu a zároveň inhibuje vývoj osteoklastů. Zhou et al. (2014) ve své studii zkoumali vliv taurinu na osteogenní diferenciaci lidských mezenchymálních kmenových buněk. Pokud byl do média, ve kterém byly kultivovány MSCs, přidán taurin, byla podpořena exprese ALP, osteopontinu, Runx2 a osterixu.

5.3 Tenogeneze

Šlacha je fibrózní tkáň tvořená hustě uspořádanými kolagenními vlákny, která spojují sval s kostí a přenášejí mezi nimi působení síly (James et al. 2008). Často jsou vystavena silnému tahu a jsou tak náchylná k natržení nebo přímo přetržení. Regenerační schopnost šlach je však velmi nízká, jsou málo vaskularizované, proces hojení je tedy pomalý a zhojená tkáň nesplňuje strukturní ani funkční požadavky na plnohodnotné nahrazení tkáně původní (Liu et al. 2011). Poranění jsou obvykle řešena chirurgickým zákrokem, při kterém je šlacha spojena nebo částečně nahrazena transplantátem, což obvykle není bez komplikací. Tkáňové inženýrství se proto snaží vyvinout postup obnovy šlach za využití kombinace buněk, různých scaffoldů a bioaktivních molekul. *In vitro* diferenciaci MSCs v buňky šlach závisí také na působení stálého tahu ve směru jedné osy (Riehl et al. 2012) bez ohledu

na to, jaký růstový faktor byl použit pro indukci diferenciace. Jako markery, na základě jejichž přítomnosti můžeme usuzovat na tenogenezi, se používají transkripční faktor SCX (scleraxis), geny extracelulární matrix TNC (tenascin-C), kolagen typu I, kolagen typu III a DCN (decorin).

5.3.1 Faktory ovlivňující tenogenezi

Působení GDF-5 v různých koncentracích zaznamenali ve své studii Tan et al. (2012). Jako pozitivní kontrola sloužila kultura lidských tenocytů (hTeno). Nejlépe buňky reagovaly na stimulaci GDF-5 v koncentraci 100 ng/ml. Produkovaly shodné množství celkového kolagenu jako buňky v kontrolní skupině a také exprimovaly stejné markery – COL-I, COL-III, SCX a TNC. Naopak exprese ne-tenogenních genů RUNX2 a SOX9 byla potlačena. V této studii nebyla však pozorována přímá úměra mezi koncentrací růstového faktoru a množstvím exprimovaných markerů.

BMP-12 je lidským homologem myšího růstového faktoru GDF-7. Jeho vliv na tenogenní diferenciaci byl studován na koňských mezenchymálních kmenových buňkách (Gulati et al. 2013). MSCs byly vystaveny působení BMP-12 a následně byly sledovány změny v jejich morfologii a exprimované tenogenní markery. Diferencované buňky byly na rozdíl od negativní kontroly (buňky v podmínkách bez růstového faktoru) štihlejší a protáhlejší a exprimovaly tenomodulin a decorin.

Dalším z růstových faktorů, jehož vliv na MSCs byl analyzován, je FGF-2. Jako první se jím v této souvislosti zabývali Hankemeier et al. (2005). Jejich data ukazují, že FGF-2 stimuluje proliferaci lidských mezenchymálních kmenových buněk a zvyšuje expresi kolagenu I a III, fibronectinu a vimentinu. Nově vyvinuté tenocyty dosahovaly vysoké buněčné hustoty a měly protažený fenotyp.

Kromě růstových faktorů byla zkoumána i decelularizovaná extracelulární matrix šlach (Yang et al. 2013). Z extracelulární matrix telecích Achillových šlach byla extrahována rozpustná frakce, která byla decelularizována, přidána ke kolagenovému scaffoldu a následně osazena lidskými mezenchymálními kmenovými buňkami. Vlivem působení 3D struktury scaffoldu a přídavku extracelulární matrix diferencovaly MSCs v tenocyty, což bylo prokázáno přítomností markerů SCX a TNC, které v kontrolní 2D kultuře exprimovány nebyly. Morfologické změny byly stejné jako v předchozích případech. Díky této studii se také ukázalo, že použití extracelulární matrix výrazně zlepšuje mechano-elastické vlastnosti nově diferencovaných tenocytů.

5.4 Neurogeneze

Mezenchymální kmenové buňky jsou schopné diferencovat do neuronů i do glií, kam řadíme například Schwannovy buňky. Neuron je základní jednotka nervové tkáně, dokáže přijmout, vést, zpracovat a předat informace formou změny membránového potenciálu. Schwannovy buňky mají za úkol regeneraci periferních nervů a jejich vývoj (Jessen and Mirsky 1999). Pokud jsou Schwannovy

buňky transplantovány do CNS, podporují obnovu nervových vláken a dokáží remyelinizovat axony (Dezawa et al. 2004).

Jsou známy tři cesty, jak diferenciaci v nervové buňky indukovat: 1) chemická indukce, která zahrnuje použití růstových faktorů a dalších látek (např. Hellmann et al. 2006), 2) transfekce MSCs vektorem nesoucím gen pro molekulu vyvolávající neurogenezi (např. Trzaska et al. 2009), 3) kultivace MSCs s nervovými buňkami, kdy MSCs vlivem rozpustných faktorů nebo mezibuněčných interakcí převz mou jejich fenotyp (Choong et al. 2007). Genetická manipulace má však oproti chemické indukci a kultivaci s nervovými buňkami poměrně velkou nevýhodu – vlivem zásahu do genomu může dojít k nádorové transformaci buněk. Diferenciační protokoly však byly v několika studiích zpochybněny s tím, že diferenciaci v buňky s neurálním fenotypem je spíše reakcí na stresové podmínky při kultivaci (Lu, Blesch, and Tuszynski 2004). Navíc bylo zjištěno, že ani pouhá exprese neuronálních markerů nemůže být brána jako dostatečný důkaz neurogeneze, protože MSCs je mohou exprimovat i za standardních kultivačních podmínek (Deng et al. 2006).

5.4.1 Faktory ovlivňující neurogenezi

BME (β -mercaptoethanol) je ve vodě dobře rozpustná chemická sloučenina obsahující molekulu síry. V molekulární biologii se používá k redukci disulfidických můstků, funguje jako antioxidant a podporuje neuritické procesy (Woodbury et al. 2000). Příměs BME do kultivačního media pro kryší a lidské MSCs se projeví změnami morfologie buněk a expresí specifických markerů NSE, NF-M (neurofilamenta M), tau a NeuN (Black and Woodbury 2001). Když byl do media v další fázi přidán bFGF, počet diferencovaných buněk vykazujících neuronální znaky se zvedl a navíc začaly exprimovat nestin.

. Také v dalším diferenciačním protokolu byl použit BME a bFGF, tentokrát s příměsí kyseliny retinové, forskolinu (FSK), a heregulinu (HRG). Kyselina retinová je oxidovaná forma vitamínu A a účastní se růstu a vývoje organismu. FSK funguje jako aktivátor adenyl cyclázy a zvyšuje tak hladinu cAMP. Heregulin je růstový faktor participující v buněčné proliferaci, přežití, invazivitě a diferenciaci normálních i nádorových tkání. Funguje také jako determinační signál směřující MSCs k diferenciaci ve Schwannovy buňky (Rahmatullah et al. 1998). Zhu et al. (2014) použili v prvním kroku diferenciaci BME a RA, následně pak bFGF, PDGF a HRG. Jejich výsledky ukazují, že v diferenciaci kryších MSCs ve Schwannovy buňky je klíčovým regulátorem bFGF.

NGF (z anglického nerve growth factor) je malý protein zásadní pro růst, výživu a přežití neuronů a funguje také jako signální molekula (Fiore, Chaldakov, and Aloe 2009). Pokud byl NGF včleněn do fibrinové matrix a celý scaffold následně aplikován v místě nervového defektu na periferii, došlo k výraznému zesílení axonálního růstu nervových buněk. Po působení NGF na kryší mezenchymální kmenové buňky byla zaznamenána exprese map2, nestinu a β -tubulinu III, přičemž nestimulované buňky tyto markery neexprimovaly (Cho et al. 2010). Ovlivněné buňky vykazovaly

také morfologické změny – prodlužovaly se a jejich cytoskelet byl uspořádán způsobem typickým pro nervové buňky.

5.5 Hepatogeneze

Dospělá játra mají schopnost regenerace založenou na přítomnosti diferencovaných hepatocytů – jaterních parenchymatických buněk a progenitorových buněk, které mají funkci rezervoáru nediferencovaných jaterních buněk (Fausto and Riehle 2005). Hepatocyty reagují na akutní poškození, jako je například chirurgické odstranění části jater, zvýšením proliferační kapacity a tvorbou nové jaterní tkáně. Transplantační studie provedené na myších prokázaly, že hepatocyty jsou schopné projít více než 70 buněčnými cykly (Overturf et al. 1997). Na lidském i zvířecím modelu chronických jaterních onemocnění bylo ukázáno, že progenitorové buňky proliferují v případě, že proliferace hepatocytů je nějakým způsobem blokována (Roskams et al. 2003). Tyto nediferencované buňky by tak mohly být vhodnými kandidáty pro reparaci poškozené tkáně jater. Jejich využití v praxi s sebou však nese řadu komplikací, mimo jiné například problematickou izolaci homogenních buněčných populací a následnou kultivaci dostatečného počtu buněk pro další použití (Dalgetty et al. 2009). Minimální charakteristiky, které musí diferencovaná buňka splňovat, aby mohla být nazývána hepatocytem, definovali Hengstler et al. (2009). Jsou to: metabolická aktivita (detoxifikace organismu), syntetická funkce (například albuminu, lipidů), zásobní funkce (glykogen, vitamíny rozpustné v tucích).

5.5.1 Faktory ovlivňující hepatogenezi

K indukci diferenciace mezenchymálních kmenových buněk v buňky jaterní jsou používány kombinace růstových faktorů a dalších biogenních molekul, jejichž přehled je uveden níže.

Myší mezenchymální kmenové buňky kultivované v médiu s přídavkem HGF a FGF4 měly odlišnou morfologii od negativní kontroly kultivované pouze v základním mediu – buňky měly kulaté jádro a granulární cytoplazmu (Lu et al. 2014). Kromě morfologických změn byla také sledována exprese raných markerů hepatocytů AFP a FOXa2, které byly zaznamenány po sedmi dnech kultivace MSCs v médiu s růstovými faktory.

Ayatollahi et al. (2011) získali buňky kuboidního tvaru, které syntetizovaly albumin, AFP i močovinu a dokázaly skladovat glykogen, poté co lidské MSCs experimentálně vystavovali působení směsi IGF-1, HGF a dexamethasonu, do níž v druhém kroku přidali onkostatín M. Onkostatín (OSM) patří do rodiny interleukin-6 a jeho funkcí je podpora maturace hepatocytů (Miyajima et al. 2000). Dexamethason (Dex) je glukokortikoid účastnící se aktivace enzymů spojených s glukoneogenezí v játrech (Snykers et al. 2006).

Médium s obsahem EGF, FGF1, FGF4, HGF, OSM, Dex, transferinu, askorbové kyseliny a insulinu použili ve své studii Banas et al. (2009). EGF (z anglického epidermal growth factor) je růstový faktor, který má na jaterní buňky mitogenní účinek *in vitro* (McGowan, Strain, and Bucher 1981) i *in vivo* (Bucher, Patel, and Cohen 1977). Působením tohoto média na lidské MSCs došlo po třítýdenní kultivaci ke změně morfologie směrem k fenotypu hepatocytů – z protáhlých buněk se staly kulaté s těsnými mezibuněčnými interakcemi a žlučovými kapilárami (Banas et al. 2009). Po dalších dvou týdnech počet buněk s hepatocytárním fenotypem vzrostl a kromě toho začaly vstřebávat LDL částice. Pokud byly tyto buňky transplantovány myším, inkorporovaly se do jaterního parenchymu.

Aurich et al. (2009) použili kombinaci HGF a FGF k diferencování lidských MSCs v hepatocyty. Zjistili, že diferencované buňky dokázaly skladovat glykogen, syntetizovat močovinu a metabolizovat 7-ethoxyresorufin na resorufin, což dokládá aktivitu cytochromu P4501A. Po transplantaci diferencovaných MSCs do jater myší, začaly exprimovat albumin a hepatocytární parafin 1.

Kultivace lidských MSCs v médiu s obsahem EGF, bFGF, HGF, OSM, DMSO, askorbové kyseliny a dexamethasonu vedla ke vzniku klastrů diferencovaných buněk vykazujících funkční vlastnosti hepatocytů (Okura et al. 2010). Transplantace těchto klastrů myším s chronickým poškozením jater vedlo k významnému zlepšení sérového albuminu a celkové hladiny bilirubinu.

5.6 Diferenciace v buňky slinivky břišní

Možné cesty jak indukovat diferenciaci mezenchymálních kmenových buněk jsou hojně studovány, protože získané ostrůvky pankreatických β -buněk by mohly být využitelné ke zmírnění obtíží osob trpících jedním z typů diabetu. Standardní léčebná strategie *diabetes mellitus* je založena na pravidelných kontrolách hladiny glukózy v krvi a následném injekčním podání inzulinu. Tato metoda však nemůže plně nahradit fyziologickou regulaci uvolňování inzulinu, a proto může vést k nebezpečným stavům hypoglykemie. Ve snaze obnovit přirozenou sekreci inzulinu jsou prováděny transplantace buď pankreatu, nebo pouze jednotlivých ostrůvků. Po transplantaci pankreatických ostrůvků byla u pacientů obnovena kontrola glykemie a nutnost inzulinové terapie odpadla po dobu následných měsíců až let (Ryan et al. 2005).

Identifikace inzulin produkujících buněk je založena na jejich schopnosti exprimovat geny související s vývojem a funkcí slinivky břišní jako je například inzulin I a II, GLUT2, nestin, PDX1 (z anglického pancreatic duodenal homeobox 1) nebo Pax6 a syntetizovat C-peptid (součást molekuly proinzulinu) a inzulin (Tang et al. 2004).

5.6.1 Faktory ovlivňující diferenciaci v buňky slinivky břišní

K indukci diferenciaci MSCs v buňky pankreatu lze použít celou škálu látek a diferenciacních protokolů, které jsou shrnuty níže.

Nikotinamid, známý také jako vitamin B3 nebo niacinamid, je amid kyseliny nikotinové a uplatňuje se v energetickém metabolismu jako součást NADH. Activin je molekula, která ovlivňuje kromě jiného buněčnou proliferaci, diferenciaci, apoptózu a endokrinní funkce (Chen et al. 2006). β -celulin je řazen do rodiny epidermálních růstových faktorů (EGF) a účastní se diferenciaci pankreatických β -buněk (Dahlhoff, Wolf, and Schneider 2014).

Při použití krysích mezenchymálních kmenových buněk bylo dosaženo diferenciaci v inzulin produkující buňky kultivací v mediu s vysokým obsahem glukózy (Oh et al. 2004) nebo nikotinamidu (Wu et al. 2007). Diferencované buňky syntetizovaly inzulin, což vedlo k obnově kontroly hladiny glukózy v krvi diabetických krys. Podle jiného protokolu byla diferenciaci navozena kombinací nikotinamidu, activinu A a β -celulinu v mediu s vysokou koncentrací glukózy (Sun et al. 2007). Uvedeným postupem byly získány buňky se schopností reagovat na změny hladiny glukózy, které svou morfologií a expresí genů pro inzulin a glukagon odpovídaly buňkám pankreatických ostrůvků.

Vliv derivátu aminopyrrolu XW4.4 na diferenciaci MSCs *in vitro* zjišťovali ve své studii Ouyang et al. (2013). Na krysích mezenchymálních kmenových buňkách ukázali, že po týdenním působení XW4.4 došlo k diferenciaci do linie s morfologií ostrůvkových buněk a tvorbě klastrů. Získané buňky také sekretovaly inzulin, reagovaly na stimulaci glukózou a exprimovaly pankreatické markerové geny.

Diferenciaci lidských MSCs v buňky syntetizující inzulin bylo dosaženo i použitím přídatku bFGF do kultivačního media (Timper et al. 2006). Po jeho působení byla zaznamenána zvýšená exprese transkripčních faktorů Isl-1, Ip1-1 a Ngn-3, které pozitivně regulují expresi genů pro inzulin a somatostatin. Kromě toho byla pozorována i indukce exprese genů pro glukagon.

KGF (z anglického keratinocyte growth factor) se řadí do rodiny FGF. Uplatňuje se v morfogenezi a v obnově epitelů po poranění (Finch and Rubin 2004). Vliv tohoto růstového faktoru na diferenciaci lidských mezenchymálních kmenových buněk zjišťovali ve své studii Bhandari et al. (2011). Kombinací KGF a activinu A bylo dosaženo diferenciaci MSCs v buňky, které reagovaly na stimulaci glukózou. Navíc syntetizovaly inzulin a C-peptid a exprimovaly markery specifické pro pankreatické buňky, například PDX1, NGN3 a INS.

6 Terapeutické využití MSCs

Mezenchymální kmenové buňky jsou díky svým unikátním vlastnostem potenciálními kandidáty pro využití v regenerativní medicíně, jejímž hlavním cílem je obnovení struktury a funkce poškozených buněk a tkání. Na vzniku a regeneraci tkání se podílejí nejen kmenové buňky, ale i chemické látky, které jsou buňkami uvolňovány do okolí v reakci na poškození a další stimuly.

Regenerativní medicína využívá jak buněk autologních, tedy odebraných pacientovi, , tak alogenních, jejichž dárce je jiná osoba než příjemce. Další možností je také použití embryonálních kmenových buněk, což s sebou však přináší etické problémy. Použití alogenních buněk a transplantátů je často spojeno s imunologickou reakcí pacienta a následným odmítnutí transplantátu. Proto je nejvýhodnější použití autologních buněk. Tato buněčná terapie by mohla zlepšit kvalitu života lidem trpícím onemocněním, jehož následkem je poškození tkáně či orgánu.

6.1 Poškození CNS

Mozková mrtvice je způsobena nedostatečným prouděním krve do mozku, což vede ke vzniku hypoxie a následně i neurologickému poškození. Pacienti mají problémy se zrakem, mluvením a pohybem. Na myším modelu bylo ukázáno, že transplantace MSCs izolovaných z pupečnickové krve (UC-MSCs) do místa poškození může vést k obnově funkcí dané oblasti (Ding et al. 2007), nebo alespoň ke zmenšení rozsahu poškození mozkové tkáně (Liao et al. 2009).

Důsledkem poškození míchy je především omezení hybnosti postiženého. Yang et al. (2008) zdokumentovali úspěšnost aplikace lidských UC-MSCs po přetěti míchy u krys. Výsledky jejich studie ukazují zvýšený počet regenerovaných axonů a lepší schopnost pohybu ve srovnání s kontrolní skupinou, kde MSCs aplikovány nebyly.

Parkinsonova choroba (Parkinson's disease – PD) je neurodegenerativní onemocnění způsobené zánikem dopaminergních neuronů v *substantia nigra* (Yasuhara and Date 2007) a provázené typickým třesem a špatnou pohyblivostí. Po injekčním podání MSCs z kostní dřeně bylo u myší s PD zaznamenáno signifikantní zlepšení při testu motorických schopností (Li et al. 2001), tzv. rotarod testu. Dalším neurodegenerativním onemocněním je Alzheimerova choroba, která je způsobena ukládáním amyloidních plaků a následnou ztrátou neuronů a synapsí v mozkové kůře (Madeira et al. 2005). Příznaky tohoto onemocnění by mohly být rovněž zmírněny aplikací MSCs, například z lidské pupečnickové krve (Lee et al. 2010).

6.2 Onemocnění kostí

Osteogenesis imperfecta (OI) je onemocnění charakterizované extrémní křehkostí kostí a nedostatečnou funkcí dalších pojivových tkání. Transplantace alogenní kostní dřeně vede k formaci nové kostní tkáně a zvyšuje zastoupení minerálních látek v kostech (Horwitz et al. 1999). Dětem postiženým OI byly podávány MSCs jak v infuzích (Horwitz et al. 2002), tak i přímo do místa zlomeniny (Griffin, Iqbal, and Bayat 2011). Jako efektivnější se jevila aplikace přímo do místa poranění.

Studie prováděné na hlodavcích přinesly pozitivní výsledky především v oblasti hojení zlomenin a metabolických osteopatií (Griffin, Iqbal, and Bayat 2011) a při léčbě steroidy vyvolané osteonekrózy hlavice stehenní kosti (Kawate et al. 2006). Pro dosažení co nejefektivnějšího hojení je třeba, aby autologní MSCs byly nasazeny v koncentraci 1000 a více buněk na cm^3 (Hernigou et al. 2005). Jako metoda nejlépe indukující osteogenezi se ukázalo použití mezenchymálních kmenových buněk s krevní plazmou obohacenou o trombocyty v kombinaci se syntetickou kostní náhradou (Kitaori et al. 2009). Obecně vykazují vyšší potenciál osteogeneze MSCs izolované z kostní dřeně, než z jiných zdrojů (Muraglia, Cancedda, and Quarto 2000).

6.3 Osteoartritida

Osteoartritida je jednou z nejčastějších kloubních patologií omezujících pohyblivost, jejíž charakteristikou je narušená celistvost hyalinní chrupavky a subchondrálních kostí (Ishiguro, Kojima, and Poole 2002). Vysoký počet lidí trpících touto nemocí vede ke snaze vyvinout co nejoptimálnější náhradu kloubní chrupavky. V současnosti je pozornost v této oblasti soustředěna zejména na tkáňové inženýrství, které by, při využití vhodného scaffoldu, buněk a stimulačních biomolekul, mohlo přinést postup k vytvoření náhradní chrupavky. Chrupavka je, na rozdíl od kostní tkáně, tkáň bez cévního zásobení krví, což je také důvodem její velmi nízké schopnosti regenerace (Mankin 1982). Jednotlivé buňky jsou vyživovány difuzí látek ze synoviální tekutiny.

V současné době není známa žádná léčba, která by dokázala zastavit osteoartritidu a zahájit regeneraci. Některé přípravky pouze zpomalují její rozvoj (Steinert et al. 2007). Úspěšné je však využití autologních MSCs v buněčné terapii – a to především u mladých lidí, u nichž je nově produkovaná chrupavka velmi kvalitní (Minas et al. 2010). Porovnáme-li MSCs různého původu s ohledem na využití při léčbě kloubních onemocnění, jeví se jako nejvhodnější buňky pocházející ze synoviální membrány (Sakaguchi et al. 2005).

6.4 Kardiovaskulární onemocnění

Kardiovaskulární onemocnění jsou nejčastější příčinou úmrtí obyvatel rozvinutých zemí. Na vývoj léčebných postupů se v posledních několika letech zaměřilo mnoho studií, z nichž některé výsledky procházejí v současné době klinickými testy (Williams and Hare 2011). Byla prokázána schopnost diferenciací MSCs do kardiomyocytů (Yang et al. 2009). MSCs, které byly injekčně vpraveny do zjizvené tkáně, se úspěšně inkorporovaly a exprimovaly markery kardiomyocytů (Toma et al. 2002). U pacientů po subakutním infarktu myokardu došlo po 3 měsících od intrakoronární infuze MSCs z kostní dřeně ke zlepšení perfuze (S. Chen et al. 2004). Pozitivní vliv MSCs byl pozorován i při léčbě aortálního aneurysmatu (Yamawaki-Ogata et al. 2014).

6.5 Onemocnění jater

Nejběžnějším řešením v případě nefunkčnosti jater je jejich transplantace. Nicméně vzhledem k nedostatku vhodných dárců a náročnosti operace je snaha nalézt jednodušší způsob zajištění funkčnosti poškozených hepatocytů. Na myším modelu bylo prokázáno, že MSCs jsou schopné včlenit se do jaterní tkáně a diferencovat do funkčních jaterních buněk (Stock et al. 2010). Experimenty s krysami prokázaly, že aplikace MSCs chrání před chemickým poškozením jater (Chang et al. 2009) a před rozvojem jaterní cirhózy (Hwang et al. 2012). Potenciál MSCs v obnově jater je studován i u lidí. Klinické pokusy svědčí o tom, že jak diferencované (Kuo et al. 2008) tak nediferencované MSCs (El-Ansary et al. 2012) mohou významně zlepšit jaterní funkce.

6.6 Onemocnění ledvin

U mezenchymálních kmenových buněk byla prokázána i schopnost nahrazovat poškozenou tkáň ledvin (Tang et al. 2012). V klinické studii prováděné u lidí trpících chronickým onemocněním ledvin, kteří dostali dvě dávky autologních MSCs z kostní dřeně o množství asi 1 milion buněk/kg tělesné hmotnosti, byla prokázána zlepšená funkce ledvin po 1, 3 a 6 měsících od aplikace (El-Ansary et al. 2012).

7 Závěr

Pro indukci diferenciací MSCs do požadovaných buněčných typů je využívána pestrá škála látek jak syntetických, tak i těch, které se v organismu při vývoji dané tkáně přirozeně uplatňují. Ne u všech je však znám přesný mechanismus účinku, jehož objasnění by usnadnilo využití MSCs v tkáňovém inženýrství. Nemalou roli při diferenciaci MSCs hraje také mikroprostředí a buňky, které je obklopují. Proto je důležité studium procesů na úrovni buňky, ale také na úrovni tkáně či orgánu a organismu jako celku. Použití lidských kmenových buněk v oblasti regenerativní medicíny je regulováno řadou etických i legislativních norem, zejména v případě *in vitro* manipulací. Ty jsou však nutné například za účelem proliferace buněk, jejichž počet po izolaci není pro regeneraci tkáně dostatečný. Proto je ideální využití savčích modelových organismů, na nichž probíhá testování látek a nosičů, které vykazují slibné výsledky *in vitro*. V případě úspěchu postupuje léčivo či nosič do preklinických a klinických testů. Indukce vzniku celého orgánu *in vitro* zatím není rutinní záležitostí, při správných kultivačních podmínkách je však možné získat soubory buněk charakteristických pro danou tkáň. Pokud jsou mezenchymální kmenové buňky implantovány do poškozeného místa, dokáží se, po interakci s okolním prostředím, stát jeho součástí a převzít funkci původní tkáně. V současné době se v lidské i veterinární medicíně můžeme poměrně běžně setkat s aplikací samotných MSCs nebo MSCs v kombinaci s biokompatibilním materiálem. Především při terapii částí pohybového aparátu jako jsou šlachy nebo klouby. I v dalších oblastech regenerativní medicíny zabývajících se například léčbou nervové nebo kardiovaskulární soustavy probíhají klinické testy s nadějnými výsledky. Pozitivní vlastnosti MSCs jsou využívány také v estetické medicíně.

I když do současné doby nebyly zaznamenány žádné závažné negativní důsledky aplikace MSCs a jejich terapeutické využití tak může být považováno za nerizikové, jsou potřeba další studie k ověření dlouhodobé bezpečnosti, imunogenicity a nejvhodnějšího zdroje pro získání dostatečného množství mezenchymálních kmenových buněk.

8 Použitá literatura

- Aenlle, Kristina K, Kevin M Curtis, Bernard A Roos, and Guy A Howard. 2014. "Hepatocyte Growth Factor and p38 Promote Osteogenic Differentiation of Human Mesenchymal Stem Cells." *Molecular Endocrinology (Baltimore, Md.)* 28 (5): me20131286. doi:10.1210/me.2013-1286.
- Alison, Malcolm R, Richard Poulsom, Stuart Forbes, and Nicholas A Wright. 2002. "An Introduction to Stem Cells." *The Journal of Pathology* 197 (4): 419–23. doi:10.1002/path.1187.
- An, Chunhou, Yang Cheng, Quan Yuan, and Jianjun Li. 2010. "IGF-1 and BMP-2 Induces Differentiation of Adipose-Derived Mesenchymal Stem Cells into Chondrocytes-like Cells." *Annals of Biomedical Engineering* 38 (4): 1647–54. doi:10.1007/s10439-009-9892-x.
- Aurich, H, M Sgodda, P Kaltwasser, M Vetter, A Weise, T Liehr, M Brulport, et al. 2009. "Hepatocyte Differentiation of Mesenchymal Stem Cells from Human Adipose Tissue in Vitro Promotes Hepatic Integration in Vivo." *Gut* 58 (4): 570–81. doi:10.1136/gut.2008.154880.
- Ayatollahi, Maryam, Masoud Soleimani, Seyed Ziaadin Tabei, and Maryam Kabir Salmani. 2011. "Hepatogenic Differentiation of Mesenchymal Stem Cells Induced by Insulin like Growth Factor-I." *World Journal of Stem Cells* 3 (12): 113–21. doi:10.4252/wjsc.v3.i12.113.
- Bai, Yan, Peipei Li, Guangfu Yin, Zhongbing Huang, Xiaoming Liao, Xianchun Chen, and Yadong Yao. 2013. "BMP-2, VEGF and bFGF Synergistically Promote the Osteogenic Differentiation of Rat Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cells." *Biotechnology Letters* 35 (3): 301–8. doi:10.1007/s10529-012-1084-3.
- Banas, Agnieszka, Takumi Teratani, Yusuke Yamamoto, Makoto Tokuhara, Fumitaka Takeshita, Mitsuhiro Osaki, Takashi Kato, Hitoshi Okochi, and Takahiro Ochiya. 2009. "Rapid Hepatic Fate Specification of Adipose-Derived Stem Cells and Their Therapeutic Potential for Liver Failure." *Journal of Gastroenterology and Hepatology* 24 (1): 70–77. doi:10.1111/j.1440-1746.2008.05496.x.
- Basler, K, T Edlund, T M Jessell, and T Yamada. 1993. "Control of Cell Pattern in the Neural Tube: Regulation of Cell Differentiation by Dorsalin-1, a Novel TGF Beta Family Member." *Cell* 73 (4): 687–702.
- Beltrami, Antonio P, Laura Barlucchi, Daniele Torella, Mathue Baker, Federica Limana, Stefano Chimenti, Hideko Kasahara, et al. 2003. "Adult Cardiac Stem Cells Are Multipotent and Support Myocardial Regeneration." *Cell* 114 (6): 763–76.
- Bessa, P C, M Casal, and R L Reis. 2008. "Bone Morphogenetic Proteins in Tissue Engineering: The Road from Laboratory to Clinic, Part II (BMP Delivery)." *Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine* 2 (2-3): 81–96. doi:10.1002/term.74.
- Bhandari, Dilli Ram, Kwang-Won Seo, Bo Sun, Min-Soo Seo, Hyung-Sik Kim, Yoo-Jin Seo, Jurga Marcin, et al. 2011. "The Simplest Method for in Vitro B-Cell Production from Human Adult Stem Cells." *Differentiation; Research in Biological Diversity* 82 (3). Elsevier: 144–52. doi:10.1016/j.diff.2011.06.003.
- Black, I B, and D Woodbury. 2001. "Adult Rat and Human Bone Marrow Stromal Stem Cells Differentiate into Neurons." *Blood Cells, Molecules & Diseases* 27 (3): 632–36. doi:10.1006/bcmd.2001.0423.
- Bottaro, D P, J S Rubin, D L Faletto, A M Chan, T E Kmiecik, G F Vande Woude, and S A Aaronson. 1991. "Identification of the Hepatocyte Growth Factor Receptor as the c-Met Proto-Oncogene Product." *Science (New York, N.Y.)* 251 (4995): 802–4.
- Bruder, S P, N Jaiswal, and S E Haynesworth. 1997. "Growth Kinetics, Self-Renewal, and the Osteogenic Potential of Purified Human Mesenchymal Stem Cells during Extensive Subcultivation and Following Cryopreservation." *Journal of Cellular Biochemistry* 64 (2): 278–94.
- Bucher, N L, U Patel, and S Cohen. 1977. "Hormonal Factors Concerned with Liver Regeneration." *Ciba Foundation Symposium*, no. 55 (January): 95–107.
- Büttner, Marianne, Stephanie Möller, Mario Keller, Daniel Huster, Jürgen Schiller, Matthias Schnabelrauch, Peter Dieter, and Ute Hempel. 2013. "Over-Sulfated Chondroitin Sulfate Derivatives Induce Osteogenic Differentiation of hMSC Independent of BMP-2 and TGF- β 1 Signalling." *Journal of Cellular Physiology* 228 (2): 330–40. doi:10.1002/jcp.24135.
- Cao, Cong, Yinghai Dong, and Yuqi Dong. 2005. "[Study on Culture and in Vitro Osteogenesis of Blood-Derived Human Mesenchymal Stem Cells]." *Zhongguo Xiu Fu Chong Jian Wai Ke Za Zhi = Zhongguo Xiufu Chongjian Waike Zazhi = Chinese Journal of Reparative and Reconstructive Surgery* 19 (8): 642–47.

- Carter, R A, and I P Wicks. 2001. "Vascular Cell Adhesion Molecule 1 (CD106): A Multifaceted Regulator of Joint Inflammation." *Arthritis and Rheumatism* 44 (5): 985–94. doi:10.1002/1529-0131(200105)44:5<985::AID-ANR176>3.0.CO;2-P.
- Conway, A., & Schaffer, D. V. (2012). Biophysical regulation of stem cell behavior within the niche. *Stem Cell Research & Therapy*, 3(6), 50. doi:10.1186/scrt141
- Cutler, C, and J H Antin. 2001. "Peripheral Blood Stem Cells for Allogeneic Transplantation: A Review." *Stem Cells (Dayton, Ohio)* 19 (2): 108–17. doi:10.1634/stemcells.19-2-108.
- Da Silva Meirelles, Lindolfo, Pedro Cesar Chagastelles, and Nance Beyer Nardi. 2006. "Mesenchymal Stem Cells Reside in Virtually All Post-Natal Organs and Tissues." *Journal of Cell Science* 119 (Pt 11): 2204–13. doi:10.1242/jcs.02932.
- Dahlhoff, Maik, Eckhard Wolf, and Marlon R Schneider. 2014. "The ABC of BTC: Structural Properties and Biological Roles of Betacellulin." *Seminars in Cell & Developmental Biology*, January. doi:10.1016/j.semcdb.2014.01.002.
- Dalgetty, Donna M, Claire N Medine, John P Iredale, and David C Hay. 2009. "Progress and Future Challenges in Stem Cell-Derived Liver Technologies." *American Journal of Physiology. Gastrointestinal and Liver Physiology* 297 (2): G241–8. doi:10.1152/ajpgi.00138.2009.
- Danisovic, Lubos, Petr Lesny, Vojtech Havlas, Petr Teyssler, Zdenka Syrova, Martin Kopani, Gabriela Fujerikova, Tomas Tre, Eva Sykova, and Pavla Jendelova. 2007. "Chondrogenic Differentiation of Human Bone Marrow and Adipose Tissue-Derived Mesenchymal Stem Cells." *Journal of Applied Biomedicine*.
- Danišovič, L, I Varga, and S Polák. 2012a. "Growth Factors and Chondrogenic Differentiation of Mesenchymal Stem Cells." *Tissue & Cell* 44 (2): 69–73. doi:10.1016/j.tice.2011.11.005.
- Davidson, David, Antoine Blanc, Dominic Filion, Huifen Wang, Paul Plut, Gerald Pfeffer, Michael D Buschmann, and Janet E Henderson. 2005. "Fibroblast Growth Factor (FGF) 18 Signals through FGF Receptor 3 to Promote Chondrogenesis." *The Journal of Biological Chemistry* 280 (21): 20509–15. doi:10.1074/jbc.M410148200.
- Deng, Jie, Bryon E Petersen, Dennis A Steindler, Marda L Jorgensen, and Eric D Laywell. 2006. "Mesenchymal Stem Cells Spontaneously Express Neural Proteins in Culture and Are Neurogenic after Transplantation." *Stem Cells (Dayton, Ohio)* 24 (4): 1054–64. doi:10.1634/stemcells.2005-0370.
- Dennis, J E, A Merriam, A Awadallah, J U Yoo, B Johnstone, and A I Caplan. 1999. "A Quadripotential Mesenchymal Progenitor Cell Isolated from the Marrow of an Adult Mouse." *Journal of Bone and Mineral Research* □: *The Official Journal of the American Society for Bone and Mineral Research* 14 (5): 700–709. doi:10.1359/jbmr.1999.14.5.700.
- Dennis, James E, Jean-Pierre Carillet, Arnold I Caplan, and Pierre Charbord. 2002. "The STRO-1+ Marrow Cell Population Is Multipotential." *Cells, Tissues, Organs* 170 (2-3): 73–82.
- Devescovi, Valentina, Elisa Leonardi, Gabriela Ciapetti, and Elisabetta Cenni. 2008. "Growth Factors in Bone Repair." *La Chirurgia Degli Organi Di Movimento* 92 (3): 161–68. doi:10.1007/s12306-008-0064-1.
- Dezawa, Mari, Hiroshi Kanno, Mikio Hoshino, Hirotomi Cho, Naoya Matsumoto, Yutaka Itokazu, Nobuyoshi Tajima, et al. 2004. "Specific Induction of Neuronal Cells from Bone Marrow Stromal Cells and Application for Autologous Transplantation" 113 (12): 1701–10. doi:10.1172/JCI200420935.The.
- Ding, Dah-Ching, Woei-Cherng Shyu, Ming-Fu Chiang, Shinn-Zong Lin, Ying-Chen Chang, Hsiao-Jung Wang, Ching-Yuan Su, and Hung Li. 2007. "Enhancement of Neuroplasticity through Upregulation of beta1-Integrin in Human Umbilical Cord-Derived Stromal Cell Implanted Stroke Model." *Neurobiology of Disease* 27 (3): 339–53. doi:10.1016/j.nbd.2007.06.010.
- Ding, Dah-Ching, Woei-Cherng Shyu, and Shinn-Zong Lin. 2011. "Mesenchymal Stem Cells." *Cell Transplantation* 20 (1): 5–14. doi:10.3727/096368910X.
- Dominici, M, K Le Blanc, I Mueller, I Slaper-Cortenbach, Fc Marini, Ds Krause, Rj Deans, A Keating, Dj Prockop, and Em Horwitz. 2006. "Minimal Criteria for Defining Multipotent Mesenchymal Stromal Cells. The International Society for Cellular Therapy Position Statement." *Cytotherapy* 8 (4): 315–17. doi:10.1080/14653240600855905.
- Einhorn, T A. 1998. "The Cell and Molecular Biology of Fracture Healing." *Clinical Orthopaedics and Related Research*, no. 355 Suppl (October): S7–21.
- El-Ansary, Mervat, Iman Abdel-Aziz, Sherif Mogawer, Samah Abdel-Hamid, Olfat Hammam, Salwa Teaema, and Marwa Wahdan. 2012. "Phase II Trial: Undifferentiated versus Differentiated

- Autologous Mesenchymal Stem Cells Transplantation in Egyptian Patients with HCV Induced Liver Cirrhosis." *Stem Cell Reviews* 8 (3): 972–81. doi:10.1007/s12015-011-9322-y.
- Ellman, Michael B, Howard S An, Prasuna Muddasani, and Hee-Jeong Im. 2008. "Biological Impact of the Fibroblast Growth Factor Family on Articular Cartilage and Intervertebral Disc Homeostasis." *Gene* 420 (1): 82–89. doi:10.1016/j.gene.2008.04.019.
- Fausto, Nelson, and Kimberly J Riehle. 2005. "Mechanisms of Liver Regeneration and Their Clinical Implications." *Journal of Hepato-Biliary-Pancreatic Surgery* 12 (3): 181–89. doi:10.1007/s00534-005-0979-y.
- Fehrer, Christine, Regina Brunauer, Gerhard Laschober, Hermann Unterluggauer, Stephan Reitingner, Frank Kloss, Christian Güllly, Robert Gassner, and Günter Lepperdinger. 2007. "Reduced Oxygen Tension Attenuates Differentiation Capacity of Human Mesenchymal Stem Cells and Prolongs Their Lifespan." *Aging Cell* 6 (6): 745–57. doi:10.1111/j.1474-9726.2007.00336.x.
- Fehrer, Christine, and Günter Lepperdinger. 2005. "Mesenchymal Stem Cell Aging." *Experimental Gerontology* 40 (12): 926–30. doi:10.1016/j.exger.2005.07.006.
- Feng, Gang, Yuqing Wan, Gary Balian, Cato T Laurencin, and Xudong Li. 2008. "Adenovirus-Mediated Expression of Growth and Differentiation Factor-5 Promotes Chondrogenesis of Adipose Stem Cells." *Growth Factors (Chur, Switzerland)* 26 (3): 132–42. doi:10.1080/08977190802105917.
- Ferrari, G, G Cusella-De Angelis, M Coletta, E Paolucci, A Stornaiuolo, G Cossu, and F Mavilio. 1998. "Muscle Regeneration by Bone Marrow-Derived Myogenic Progenitors." *Science (New York, N.Y.)* 279 (5356): 1528–30.
- Finch, Paul W, and Jeffrey S Rubin. 2004. "Keratinocyte Growth Factor/fibroblast Growth Factor 7, a Homeostatic Factor with Therapeutic Potential for Epithelial Protection and Repair." *Advances in Cancer Research* 91 (January): 69–136. doi:10.1016/S0065-230X(04)91003-2.
- Fiore, Marco, George N Chaldakov, and Luigi Aloe. 2009. "Nerve Growth Factor as a Signaling Molecule for Nerve Cells and Also for the Neuroendocrine-Immune Systems." *Reviews in the Neurosciences* 20 (2): 133–45.
- Fortier, Lisa A, Joseph U Barker, Eric J Strauss, Taralyn M McCarrel, and Brian J Cole. 2011. "The Role of Growth Factors in Cartilage Repair." *Clinical Orthopaedics and Related Research* 469 (10): 2706–15. doi:10.1007/s11999-011-1857-3.
- Fraser, John K, Isabella Wulur, Zeni Alfonso, and Marc H Hedrick. 2006. "Fat Tissue: An Underappreciated Source of Stem Cells for Biotechnology." *Trends in Biotechnology* 24 (4): 150–54. doi:10.1016/j.tibtech.2006.01.010.
- Freire, Marcelo O, Huyng-Keun You, Joong-Ki Kook, Jeong-Ho Choi, and Homayoun H Zadeh. 2011. "Antibody-Mediated Osseous Regeneration: A Novel Strategy for Bioengineering Bone by Immobilized Anti-Bone Morphogenetic Protein-2 Antibodies." *Tissue Engineering. Part A* 17 (23-24): 2911–18. doi:10.1089/ten.tea.2010.0584.
- Friedenstein, A J, J F Gorskaja, and N N Kulagina. 1976. "Fibroblast Precursors in Normal and Irradiated Mouse Hematopoietic Organs." *Experimental Hematology* 4 (5): 267–74.
- Ge, Zigang, Yang Hu, Boon Chin Heng, Zheng Yang, Hongwei Ouyang, Eng Hin Lee, and Tong Cao. 2006. "Osteoarthritis and Therapy." *Arthritis and Rheumatism* 55 (3): 493–500. doi:10.1002/art.21994.
- Ghorbani, Ahmad, Seyed Amir Jalali, and Masoumeh Varedi. 2014. "Isolation of Adipose Tissue Mesenchymal Stem Cells without Tissue Destruction: A Non-Enzymatic Method." *Tissue & Cell* 46 (1): 54–58. doi:10.1016/j.tice.2013.11.002.
- Grayson, Warren L, Feng Zhao, Reza Izadpanah, Bruce Bunnell, and Teng Ma. 2006. "Effects of Hypoxia on Human Mesenchymal Stem Cell Expansion and Plasticity in 3D Constructs." *Journal of Cellular Physiology* 207 (2): 331–39. doi:10.1002/jcp.20571.
- Griffin, M, S A Iqbal, and A Bayat. 2011. "Exploring the Application of Mesenchymal Stem Cells in Bone Repair and Regeneration." *The Journal of Bone and Joint Surgery. British Volume* 93 (4): 427–34. doi:10.1302/0301-620X.93B4.25249.
- Griffiths, Mark J D, Dominique Bonnet, and Sam M Janes. 2005. "Stem Cells of the Alveolar Epithelium." *Lancet* 366 (9481): 249–60. doi:10.1016/S0140-6736(05)66916-4.
- Gronthos, Stan, Andrew C W Zannettino, Shelley J Hay, Songtao Shi, Stephen E Graves, Angela Kortessidis, and Paul J Simmons. 2003. "Molecular and Cellular Characterisation of Highly Purified Stromal Stem Cells Derived from Human Bone Marrow." *Journal of Cell Science* 116 (Pt 9): 1827–35.

- Gulati, Baldev R, Rajesh Kumar, Niharika Mohanty, Pawan Kumar, Rajesh K Somasundaram, and Prem S Yadav. 2013. "Bone Morphogenetic Protein-12 Induces Tenogenic Differentiation of Mesenchymal Stem Cells Derived from Equine Amniotic Fluid." *Cells, Tissues, Organs* 198 (5): 377–89. doi:10.1159/000358231.
- Hankemeier, Stefan, Michaela Keus, Johannes Zeichen, Michael Jagodzinski, Tanja Barkhausen, Ulrich Bosch, Christian Krettek, and Martijn V A N Griensven. 2005. "Modulation of Proliferation and Differentiation of Human Bone Marrow Stromal Cells by Fibroblast Growth Factor 2." 11 (1).
- Harris, David T, and Ian Rogers. 2007. "Umbilical Cord Blood: A Unique Source of Pluripotent Stem Cells for Regenerative Medicine." *Current Stem Cell Research & Therapy* 2 (4): 301–9.
- Hatakeyama, Yuji, Rocky S Tuan, and Lillian Shum. 2004. "Distinct Functions of BMP4 and GDF5 in the Regulation of Chondrogenesis." *Journal of Cellular Biochemistry* 91 (6): 1204–17. doi:10.1002/jcb.20019.
- Havlas, V, P Kos, P Jendelová, P Lesný, T Trč, and E Syková. 2011. "[Comparison of Chondrogenic Differentiation of Adipose Tissue-Derived Mesenchymal Stem Cells with Cultured Chondrocytes and Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells]." *Acta Chirurgiae Orthopaedicae et Traumatologiae Cechoslovaca* 78 (2): 138–44.
- Heidemann, Jan, Christian Maaser, Andreas Lügering, Thomas W Spahn, Klaus P Zimmer, Hermann Herbst, Parvaneh Rafiee, et al. 2006. "Expression of Vascular Cell Adhesion Molecule-1 (CD 106) in Normal and Neoplastic Human Esophageal Squamous Epithelium." *International Journal of Oncology* 28 (1): 77–85.
- Hellmann, M A, H Panet, Y Barhum, E Melamed, and D Offen. 2006. "Increased Survival and Migration of Engrafted Mesenchymal Bone Marrow Stem Cells in 6-Hydroxydopamine-Lesioned Rodents." *Neuroscience Letters* 395 (2): 124–28. doi:10.1016/j.neulet.2005.10.097.
- Hengstler, J G, P Godoy, and H M Bolt. 2009. "The Dilemma of Cultivated Hepatocytes." *Archives of Toxicology* 83 (2): 101–3. doi:10.1007/s00204-009-0401-7.
- Heppenstall, R B, G Grislis, and T K Hunt. 1975. "Tissue Gas Tensions and Oxygen Consumption in Healing Bone Defects." *Clinical Orthopaedics and Related Research*, no. 106: 357–65.
- Hernigou, P, A Poignard, O Manicom, G Mathieu, and H Rouard. 2005. "The Use of Percutaneous Autologous Bone Marrow Transplantation in Nonunion and Avascular Necrosis of Bone." *The Journal of Bone and Joint Surgery. British Volume* 87 (7): 896–902. doi:10.1302/0301-620X.87B7.16289.
- Hirschi, K K, and P A D'Amore. 1996. "Pericytes in the Microvasculature." *Cardiovascular Research* 32 (4): 687–98.
- Horwitz, E M, D J Prockop, L A Fitzpatrick, W W Koo, P L Gordon, M Neel, M Sussman, et al. 1999. "Transplantability and Therapeutic Effects of Bone Marrow-Derived Mesenchymal Cells in Children with Osteogenesis Imperfecta." *Nature Medicine* 5 (3): 309–13. doi:10.1038/6529.
- Horwitz, Edwin M, Patricia L Gordon, Winston K K Koo, Jeffrey C Marx, Michael D Neel, Rene Y McNall, Linda Muul, and Ted Hofmann. 2002. "Isolated Allogeneic Bone Marrow-Derived Mesenchymal Cells Engraft and Stimulate Growth in Children with Osteogenesis Imperfecta: Implications for Cell Therapy of Bone." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 99 (13): 8932–37. doi:10.1073/pnas.132252399.
- Huang, Zhinong, Ehren Robert Nelson, R Lane Smith, and Stuart B Goodman. 2007. "The Sequential Expression Profiles of Growth Factors from Osteoprogenitors [correction of Osteoprogenitors] to Osteoblasts in Vitro." *Tissue Engineering* 13 (9): 2311–20. doi:10.1089/ten.2006.0423.
- Huang, Zhinong, Pei-Gen Ren, Ting Ma, R Lane Smith, and Stuart B Goodman. 2010. "Modulating Osteogenesis of Mesenchymal Stem Cells by Modifying Growth Factor Availability." *Cytokine* 51 (3). Elsevier Ltd: 305–10. doi:10.1016/j.cyto.2010.06.002.
- Hwang, Nathaniel S, Chao Zhang, Yong-Sung Hwang, and Shyni Varghese. 2009. "Mesenchymal Stem Cell Differentiation and Roles in Regenerative Medicine." *Wiley Interdisciplinary Reviews. Systems Biology and Medicine* 1 (1): 97–106. doi:10.1002/wsbm.26.
- Hwang, Shin, Hea-Nam Hong, Hee-Sung Kim, Se-Ra Park, You-Jin Won, Sang-Tae Choi, Dongho Choi, and Sung-Gyu Lee. 2012. "Hepatogenic Differentiation of Mesenchymal Stem Cells in a Rat Model of Thioacetamide-Induced Liver Cirrhosis." *Cell Biology International* 36 (3): 279–88. doi:10.1042/CBI20110325.
- Chang, Yao-Jen, Jen-Wea Liu, Po-Cheng Lin, Li-Yi Sun, Chih-Wen Peng, Geng-Hong Luo, Tse-Min Chen, et al. 2009. "Mesenchymal Stem Cells Facilitate Recovery from Chemically Induced Liver

- Damage and Decrease Liver Fibrosis.” *Life Sciences* 85 (13-14): 517–25.
doi:10.1016/j.lfs.2009.08.003.
- Chen, Shao-liang, Wu-wang Fang, Fei Ye, Yu-Hao Liu, Jun Qian, Shou-jie Shan, Jun-jie Zhang, et al. 2004. “Effect on Left Ventricular Function of Intracoronary Transplantation of Autologous Bone Marrow Mesenchymal Stem Cell in Patients with Acute Myocardial Infarction.” *The American Journal of Cardiology* 94 (1): 92–95. doi:10.1016/j.amjcard.2004.03.034.
- Chen, Ye-Guang, Qiang Wang, Shi-Lung Lin, C Donald Chang, Jody Chuang, Jody Chung, and Shao-Yao Ying. 2006. “Activin Signaling and Its Role in Regulation of Cell Proliferation, Apoptosis, and Carcinogenesis.” *Experimental Biology and Medicine (Maywood, N.J.)* 231 (5): 534–44.
- Cho, Young Il, Ji Suk Choi, Seo Young Jeong, and Hyuk Sang Yoo. 2010. “Nerve Growth Factor (NGF)-Conjugated Electrospun Nanostructures with Topographical Cues for Neuronal Differentiation of Mesenchymal Stem Cells.” *Acta Biomaterialia* 6 (12). Acta Materialia Inc. 4725–33.
doi:10.1016/j.actbio.2010.06.019.
- Choong, P-F, P-L Mok, S-K Cheong, C-F Leong, and K-Y Then. 2007. “Generating Neuron-like Cells from BM-Derived Mesenchymal Stromal Cells in Vitro.” *Cytotherapy* 9 (2): 170–83.
doi:10.1080/14653240701196829.
- Christopheit, M, M Schendel, J Föll, L P Müller, G Keysser, and G Behre. 2008. “Marked Improvement of Severe Progressive Systemic Sclerosis after Transplantation of Mesenchymal Stem Cells from an Allogeneic Haploidentical-Related Donor Mediated by Ligation of CD137L.” *Leukemia* 22 (5): 1062–64. doi:10.1038/sj.leu.2404996.
- Ishiguro, Naoki, Toshihisa Kojima, and A Robin Poole. 2002. “Mechanism of Cartilage Destruction in Osteoarthritis.” *Nagoya Journal of Medical Science* 65 (3-4): 73–84.
- Ito, Tomomi, Rumi Sawada, Yoko Fujiwara, and Toshie Tsuchiya. 2008. “FGF-2 Increases Osteogenic and Chondrogenic Differentiation Potentials of Human Mesenchymal Stem Cells by Inactivation of TGF-Beta Signaling.” *Cytotechnology* 56 (1): 1–7. doi:10.1007/s10616-007-9092-1.
- Itoh, Nobuyuki, and David M Ornitz. 2011. “Fibroblast Growth Factors: From Molecular Evolution to Roles in Development, Metabolism and Disease.” *Journal of Biochemistry* 149 (2): 121–30.
doi:10.1093/jb/mvq121.
- Jackson, Rebecca A, Victor Nurcombe, and Simon M Cool. 2006. “Coordinated Fibroblast Growth Factor and Heparan Sulfate Regulation of Osteogenesis.” *Gene* 379 (September): 79–91.
doi:10.1016/j.gene.2006.04.028.
- James, Roshan, Girish Kesturu, Gary Balian, and A Bobby Chhabra. 2008. “Tendon: Biology, Biomechanics, Repair, Growth Factors, and Evolving Treatment Options.” *The Journal of Hand Surgery* 33 (1): 102–12. doi:10.1016/j.jhsa.2007.09.007.
- Jessen, K R, and R Mirsky. 1999. “Schwann Cells and Their Precursors Emerge as Major Regulators of Nerve Development.” *Trends in Neurosciences* 22 (9): 402–10.
- Jia, Chang-Chang, Tian-Tian Wang, Wei Liu, Bin-Sheng Fu, XueFeng Hua, Guo-Ying Wang, Tuan-Jie Li, et al. 2013. “Cancer-Associated Fibroblasts from Hepatocellular Carcinoma Promote Malignant Cell Proliferation by HGF Secretion.” *PloS One* 8 (5): e63243. doi:10.1371/journal.pone.0063243.
- Johnston, Laurance, Ph.D.. Human Spinal Cord Injury. *Stem Cells*. [online]. [2012] [cit. 2014-05-09].
Dostupné z: <http://www.sci-therapies.info/Stem-Cells.htm>
- Juncheng, Wang, Wang Bin, Li Ying, Wang Dongsheng, E Lingling, Bai Yang, and Liu Hongchen. 2013. “Original Article□: HIGH GLUCOSE INHIBITS OSTEOGENIC DIFFERENTIATION THROUGH THE BMP SIGNALING PATHWAY IN BONE”, no. 2009: 584–97.
- Kadiyala, S, R G Young, M A Thiede, and S P Bruder. 1997. “Culture Expanded Canine Mesenchymal Stem Cells Possess Osteochondrogenic Potential in Vivo and in Vitro.” *Cell Transplantation* 6 (2): 125–34.
- Kaur, Savneet, and C C Kartha. 2009. “Stem Cells□: Concepts and Prospects”, 437–52.
- Kawate, Kenji, Hiroshi Yajima, Hajime Ohgushi, Noriko Kotobuki, Kazuya Sugimoto, Tetsuji Ohmura, Yasunori Kobata, et al. 2006. “Tissue-Engineered Approach for the Treatment of Steroid-Induced Osteonecrosis of the Femoral Head: Transplantation of Autologous Mesenchymal Stem Cells Cultured with Beta-Tricalcium Phosphate Ceramics and Free Vascularized Fibula.” *Artificial Organs* 30 (12): 960–62. doi:10.1111/j.1525-1594.2006.00333.x.
- Kempen, Diederik H R, Lichun Lu, Andras Heijink, Theresa E Hefferan, Laura B Creemers, Avudaiappan Maran, Michael J Yaszemski, and Wouter J A Dhert. 2009. “Effect of Local Sequential VEGF and BMP-2 Delivery on Ectopic and Orthotopic Bone Regeneration.” *Biomaterials* 30 (14): 2816–25.
doi:10.1016/j.biomaterials.2009.01.031.

- Kim, Tae-Hyun, Meeju Kim, Mohamed Eltohamy, Ye-Rang Yun, Jun-Hyeog Jang, and Hae-Won Kim. 2013. "Efficacy of Mesoporous Silica Nanoparticles in Delivering BMP-2 Plasmid DNA for in Vitro Osteogenic Stimulation of Mesenchymal Stem Cells." *Journal of Biomedical Materials Research. Part A* 101 (6): 1651–60. doi:10.1002/jbm.a.34466.
- Kitaori, Toshiyuki, Hiromu Ito, Hiroyuki Yoshitomi, Tomoki Aoyama, Takao Fujii, Tsuneyo Mimori, and Takashi Nakamura. 2009. "Severe Erosive Arthropathy Requiring Surgical Treatments in Systemic Lupus Erythematosus." *Modern Rheumatology / the Japan Rheumatism Association* 19 (4): 431–36. doi:10.1007/s10165-009-0171-3.
- Kolf, Catherine M, Elizabeth Cho, and Rocky S Tuan. 2007. "Mesenchymal Stromal Cells. Biology of Adult Mesenchymal Stem Cells: Regulation of Niche, Self-Renewal and Differentiation." *Arthritis Research & Therapy* 9 (1): 204. doi:10.1186/ar2116.
- Kou, Ikuyo, and Shiro Ikegawa. 2004. "SOX9-Dependent and -Independent Transcriptional Regulation of Human Cartilage Link Protein." *The Journal of Biological Chemistry* 279 (49): 50942–48. doi:10.1074/jbc.M406786200.
- Kuhbier, Jörn W, Birgit Weyand, Christine Radtke, Peter M Vogt, Cornelia Kasper, and Kerstin Reimers. 2010. "Isolation, Characterization, Differentiation, and Application of Adipose-Derived Stem Cells." *Advances in Biochemical Engineering/biotechnology* 123 (January): 55–105. doi:10.1007/10_2009_24.
- Kuo, Catherine K, Wan-Ju Li, Robert L Mauck, and Rocky S Tuan. 2006. "Cartilage Tissue Engineering: Its Potential and Uses." *Current Opinion in Rheumatology* 18 (1): 64–73.
- Kuo, Tom K, Shun-Pei Hung, Chiao-Hui Chuang, Chien-Tsun Chen, Yu-Ru V Shih, Szu-Ching Y Fang, Vincent W Yang, and Oscar K Lee. 2008. "Stem Cell Therapy for Liver Disease: Parameters Governing the Success of Using Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells." *Gastroenterology* 134 (7): 2111–21, 2121.e1–3. doi:10.1053/j.gastro.2008.03.015.
- Langlois, J A, C J Rosen, M Visser, M T Hannan, T Harris, P W Wilson, and D P Kiel. 1998. "Association between Insulin-like Growth Factor I and Bone Mineral Density in Older Women and Men: The Framingham Heart Study." *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 83 (12): 4257–62. doi:10.1210/jcem.83.12.5308.
- Lee, Hyun Ju, Jong Kil Lee, Hyun Lee, Ji-woong Shin, Janet E Carter, Toshiro Sakamoto, Hee Kyung Jin, and Jae-sung Bae. 2010. "The Therapeutic Potential of Human Umbilical Cord Blood-Derived Mesenchymal Stem Cells in Alzheimer's Disease." *Neuroscience Letters* 481 (1): 30–35. doi:10.1016/j.neulet.2010.06.045.
- Li, Y, J Chen, L Wang, L Zhang, M Lu, and M Chopp. 2001. "Intracerebral Transplantation of Bone Marrow Stromal Cells in a 1-Methyl-4-Phenyl-1,2,3,6-Tetrahydropyridine Mouse Model of Parkinson's Disease." *Neuroscience Letters* 316 (2): 67–70.
- Li, Yu-Ming, Tatjana Schilling, Peggy Benisch, Sabine Zeck, Jutta Meissner-Weigl, Doris Schneider, Catarina Limbert, et al. 2007. "Effects of High Glucose on Mesenchymal Stem Cell Proliferation and Differentiation." *Biochemical and Biophysical Research Communications* 363 (1): 209–15. doi:10.1016/j.bbrc.2007.08.161.
- Liao, Wenbin, Jiang Xie, Jian Zhong, Yongjun Liu, Lei Du, Bin Zhou, Jie Xu, et al. 2009. "Therapeutic Effect of Human Umbilical Cord Multipotent Mesenchymal Stromal Cells in a Rat Model of Stroke." *Transplantation* 87 (3): 350–59. doi:10.1097/TP.0b013e318195742e.
- Liu, Chia-Feng, Lindsey Aschbacher-Smith, Nicolas J Barthelery, Nathaniel Dymont, David Butler, and Christopher Wylie. 2011. "What We Should Know before Using Tissue Engineering Techniques to Repair Injured Tendons: A Developmental Biology Perspective." *Tissue Engineering. Part B, Reviews* 17 (3): 165–76. doi:10.1089/ten.TEB.2010.0662.
- Liu, J P, J Baker, A S Perkins, E J Robertson, and A Efstratiadis. 1993. "Mice Carrying Null Mutations of the Genes Encoding Insulin-like Growth Factor I (Igf-1) and Type 1 IGF Receptor (Igf1r)." *Cell* 75 (1): 59–72.
- Longobardi, Lara, Lynda O'Rear, Srikanth Aakula, Brian Johnstone, Kimberly Shimer, Anna Chytil, William A Horton, Harold L Moses, and Anna Spagnoli. 2006. "Effect of IGF-I in the Chondrogenesis of Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells in the Presence or Absence of TGF-Beta Signaling." *Journal of Bone and Mineral Research* □: *The Official Journal of the American Society for Bone and Mineral Research* 21 (4): 626–36. doi:10.1359/jbmr.051213.
- Lu, Paul, Armin Blesch, and Mark H Tuszynski. 2004. "Induction of Bone Marrow Stromal Cells to Neurons: Differentiation, Transdifferentiation, or Artifact?" *Journal of Neuroscience Research* 77 (2): 174–91. doi:10.1002/jnr.20148.

- Lu, T, C Yang, H Sun, J Lv, F Zhang, and X J Dong. 2014. "FGF4 and HGF Promote Differentiation of Mouse Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells into Hepatocytes via the MAPK Pathway" 38 (1): 415–24.
- Luther, Gaurav, Eric R Wagner, Gaohui Zhu, Quan Kang, Qing Luo, Joseph Lamplot, Yang Bi, et al. 2011. "BMP-9 Induced Osteogenic Differentiation of Mesenchymal Stem Cells: Molecular Mechanism and Therapeutic Potential." *Current Gene Therapy* 11 (3): 229–40.
- Madeira, A, J M Pommet, A Prochiantz, and B Allinquant. 2005. "SET Protein (TAF1beta, I2PP2A) Is Involved in Neuronal Apoptosis Induced by an Amyloid Precursor Protein Cytoplasmic Subdomain." *FASEB Journal*: Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology 19 (13): 1905–7. doi:10.1096/fj.05-3839fje.
- Mankin, H J. 1982. "The Response of Articular Cartilage to Mechanical Injury." *The Journal of Bone and Joint Surgery. American Volume* 64 (3): 460–66.
- McGowan, J A, A J Strain, and N L Bucher. 1981. "DNA Synthesis in Primary Cultures of Adult Rat Hepatocytes in a Defined Medium: Effects of Epidermal Growth Factor, Insulin, Glucagon, and Cyclic-AMP." *Journal of Cellular Physiology* 108 (3): 353–63. doi:10.1002/jcp.1041080309.
- Messerli, Marianne, Anna Wagner, Ruth Sager, Martin Mueller, Marc Baumann, Daniel V Surbek, and Andreina Schoeberlein. 2013. "Stem Cells from Umbilical Cord Wharton's Jelly from Preterm Birth Have Neuroglial Differentiation Potential." *Reproductive Sciences (Thousand Oaks, Calif.)* 20 (12): 1455–64. doi:10.1177/1933719113488443.
- Mezey, E, K J Chandross, G Harta, R A Maki, and S R McKercher. 2000. "Turning Blood into Brain: Cells Bearing Neuronal Antigens Generated in Vivo from Bone Marrow." *Science (New York, N.Y.)* 290 (5497): 1779–82.
- Miljkovic, N D, G M Cooper, and K G Marra. 2008. "Chondrogenesis, Bone Morphogenetic Protein-4 and Mesenchymal Stem Cells." *Osteoarthritis and Cartilage / OARS, Osteoarthritis Research Society* 16 (10): 1121–30. doi:10.1016/j.joca.2008.03.003.
- Minas, Tom, Andreas H Gomoll, Shahram Solhpour, Ralf Rosenberger, Christian Probst, and Tim Bryant. 2010. "Autologous Chondrocyte Implantation for Joint Preservation in Patients with Early Osteoarthritis." *Clinical Orthopaedics and Related Research* 468 (1): 147–57. doi:10.1007/s11999-009-0998-0.
- Miyajima, A, T Kinoshita, M Tanaka, A Kamiya, Y Mukouyama, and T Hara. 2000. "Role of Oncostatin M in Hematopoiesis and Liver Development." *Cytokine & Growth Factor Reviews* 11 (3): 177–83.
- Moore, E E, A M Bendele, D L Thompson, A Littau, K S Waggle, B Reardon, and J L Ellsworth. 2005. "Fibroblast Growth Factor-18 Stimulates Chondrogenesis and Cartilage Repair in a Rat Model of Injury-Induced Osteoarthritis." *Osteoarthritis and Cartilage / OARS, Osteoarthritis Research Society* 13 (7): 623–31. doi:10.1016/j.joca.2005.03.003.
- Muraglia, A, R Cancedda, and R Quarto. 2000. "Clonal Mesenchymal Progenitors from Human Bone Marrow Differentiate in Vitro according to a Hierarchical Model." *Journal of Cell Science* 113 (Pt 7 (April): 1161–66.
- O'Keeffe, Gerard W, Peter Dockery, and Aideen M Sullivan. 2004. "Effects of Growth/differentiation Factor 5 on the Survival and Morphology of Embryonic Rat Midbrain Dopaminergic Neurons in Vitro." *Journal of Neurocytology* 33 (5): 479–88. doi:10.1007/s11068-004-0511-y.
- Oh, Seh-Hoon, Toni M Muzzonigro, Si-Hyun Bae, Jennifer M LaPlante, Heather M Hatch, and Bryon E Petersen. 2004. "Adult Bone Marrow-Derived Cells Trans-Differentiating into Insulin-Producing Cells for the Treatment of Type I Diabetes." *Laboratory Investigation; a Journal of Technical Methods and Pathology* 84 (5): 607–17. doi:10.1038/labinvest.3700074.
- Okura, Hanayuki, Hiroshi Komoda, Ayami Saga, Aya Kakuta-Yamamoto, Yoko Hamada, Yuichi Fumimoto, Chun Man Lee, Akihiro Ichinose, Yoshiki Sawa, and Akifumi Matsuyama. 2010. "Properties of Hepatocyte-like Cell Clusters from Human Adipose Tissue-Derived Mesenchymal Stem Cells." *Tissue Engineering. Part C, Methods* 16 (4): 761–70. doi:10.1089/ten.TEC.2009.0208.
- Otsuru, Satoru, Ted J Hofmann, Timothy S Olson, Massimo Dominici, and Edwin M Horwitz. 2013. "Improved Isolation and Expansion of Bone Marrow Mesenchymal Stromal Cells Using a Novel Marrow Filter Device." *Cytotherapy* 15 (2): 146–53. doi:10.1016/j.jcyt.2012.10.012.
- Ouyang, Jingfeng, Wei Huang, Wanwan Yu, Wei Xiong, Ramanjaneya V R Mula, Hongbin Zou, and Yongping Yu. 2013. "Generation of Insulin-Producing Cells from Rat Mesenchymal Stem Cells Using an Aminopyrrole Derivative XW4.4." *Chemico-Biological Interactions* 208 (February). Elsevier Ireland Ltd: 1–7. doi:10.1016/j.cbi.2013.11.007.

- Overturf, K, M al-Dhalimy, C N Ou, M Finegold, and M Grompe. 1997. "Serial Transplantation Reveals the Stem-Cell-like Regenerative Potential of Adult Mouse Hepatocytes." *The American Journal of Pathology* 151 (5): 1273–80.
- Park, Keun Hong, and Kun Na. 2008. "Effect of Growth Factors on Chondrogenic Differentiation of Rabbit Mesenchymal Cells Embedded in Injectable Hydrogels." *Journal of Bioscience and Bioengineering* 106 (1): 74–79. doi:10.1263/jbb.106.74.
- Patel, Devang M, Jainy Shah, and Anand S Srivastava. 2013. "Therapeutic Potential of Mesenchymal Stem Cells in Regenerative Medicine." *Stem Cells International* 2013 (January): 496218. doi:10.1155/2013/496218.
- Pittenger, Mark F, Alastair M Mackay, Stephen C Beck, Rama K Jaiswal, Robin Douglas, Joseph D Mosca, Mark A Moorman, Donald W Simonetti, Stewart Craig, and Daniel R Marshak. 1999. "Multilineage Potential of Adult Human Mesenchymal Stem Cells" 143 (1999). doi:10.1126/science.284.5411.143.
- Potier, Esther, Elisabeth Ferreira, Rina Andriamanalijaona, Jean-Pierre Pujol, Karim Oudina, Delphine Logeart-Avrarmoglou, and Hervé Petite. 2007. "Hypoxia Affects Mesenchymal Stromal Cell Osteogenic Differentiation and Angiogenic Factor Expression." *Bone* 40 (4): 1078–87. doi:10.1016/j.bone.2006.11.024.
- Pountos, Ippokratis, Theodora Georgouli, Karen Henshaw, Howard Bird, Elena Jones, and Peter V Giannoudis. 2010. "The Effect of Bone Morphogenetic Protein-2, Bone Morphogenetic Protein-7, Parathyroid Hormone, and Platelet-Derived Growth Factor on the Proliferation and Osteogenic Differentiation of Mesenchymal Stem Cells Derived from Osteoporotic Bone." *Journal of Orthopaedic Trauma* 24 (9): 552–56. doi:10.1097/BOT.0b013e3181efa8fe.
- Prockop, D J. 1997. "Marrow Stromal Cells as Stem Cells for Nonhematopoietic Tissues." *Science (New York, N.Y.)* 276 (5309): 71–74.
- Rahman, Mizanur M, Hye-Min Park, Shang-Jin Kim, Hyeon-Kyu Go, Gi-Beum Kim, Chul-Un Hong, Young-Up Lee, Sung-Zoo Kim, Jin-Shang Kim, and Hyung-Sub Kang. 2011. "Taurine Prevents Hypertension and Increases Exercise Capacity in Rats with Fructose-Induced Hypertension." *American Journal of Hypertension* 24 (5): 574–81. doi:10.1038/ajh.2011.4.
- Rahmatullah, M, A Schroering, K Rothblum, R C Stahl, B Urban, and D J Carey. 1998. "Synergistic Regulation of Schwann Cell Proliferation by Heregulin and Forskolin." *Molecular and Cellular Biology* 18 (11): 6245–52.
- Riehl, Brandon D, Jae-Hong Park, Il Keun Kwon, and Jung Yul Lim. 2012. "Mechanical Stretching for Tissue Engineering: Two-Dimensional and Three-Dimensional Constructs." *Tissue Engineering. Part B, Reviews* 18 (4): 288–300. doi:10.1089/ten.TEB.2011.0465.
- Rosier, R N, R J O'Keefe, and D G Hicks. 1998. "The Potential Role of Transforming Growth Factor Beta in Fracture Healing." *Clinical Orthopaedics and Related Research*, no. 355 Suppl (October): S294–300.
- Roskams, Tania, Shi Qi Yang, Aymen Koteish, Anne Durnez, Rita DeVos, Xiawen Huang, Ruth Achten, Chris Verslype, and Anna Mae Diehl. 2003. "Oxidative Stress and Oval Cell Accumulation in Mice and Humans with Alcoholic and Nonalcoholic Fatty Liver Disease." *The American Journal of Pathology* 163 (4): 1301–11. doi:10.1016/S0002-9440(10)63489-X.
- Ross, R, D F Bowen-Pope, and E W Raines. 1990. "Platelet-Derived Growth Factor and Its Role in Health and Disease." *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences* 327 (1239): 155–69.
- Rui, Yun-Feng, Lin DU, You Wang, Yang Wang, Pauline Po-Yee Lui, Ting-Ting Tang, Kai-Ming Chan, and Ke-Rong Dai. 2010. "Bone Morphogenetic Protein 2 Promotes Transforming Growth Factor β 3-Induced Chondrogenesis of Human Osteoarthritic Synovium-Derived Stem Cells." *Chinese Medical Journal* 123 (21): 3040–48.
- Ryan, Edmond A, Breay W Paty, Peter A Senior, David Bigam, Eman Alfadhli, Norman M Kneteman, Jonathan R T Lakey, and A M James Shapiro. 2005. "Five-Year Follow-up after Clinical Islet Transplantation." *Diabetes* 54 (7): 2060–69.
- Sago, Ken, Satoshi Tamahara, Mizuki Tomihari, Naoaki Matsuki, Yukiho Asahara, Akihiro Takei, Makoto Bonkobara, Tsukimi Washizu, and Kenichiro Ono. 2008. "In Vitro Differentiation of Canine Celiac Adipose Tissue-Derived Stromal Cells into Neuronal Cells." *The Journal of Veterinary Medical Science / the Japanese Society of Veterinary Science* 70 (4): 353–57.
- Sakaguchi, Yusuke, Ichiro Sekiya, Kazuyoshi Yagishita, and Takeshi Muneta. 2005. "Comparison of Human Stem Cells Derived from Various Mesenchymal Tissues: Superiority of Synovium as a Cell Source." *Arthritis and Rheumatism* 52 (8): 2521–29. doi:10.1002/art.21212.

- Sekiya, Ichiro, Benjamin L Larson, Jussi T Vuoristo, Roxanne L Reger, and Darwin J Prockop. 2005. "Comparison of Effect of BMP-2, -4, and -6 on in Vitro Cartilage Formation of Human Adult Stem Cells from Bone Marrow Stroma." *Cell and Tissue Research* 320 (2): 269–76. doi:10.1007/s00441-004-1075-3.
- Shi, Songtao, and Stan Gronthos. 2003. "Perivascular Niche of Postnatal Mesenchymal Stem Cells in Human Bone Marrow and Dental Pulp." *Journal of Bone and Mineral Research* □: *The Official Journal of the American Society for Bone and Mineral Research* 18 (4): 696–704. doi:10.1359/jbmr.2003.18.4.696.
- Shibuya, Masabumi. 2006. "Differential Roles of Vascular Endothelial Growth Factor Receptor-1 and Receptor-2 in Angiogenesis." *Journal of Biochemistry and Molecular Biology* 39 (5): 469–78.
- Schofield, R. 1978. "The Relationship between the Spleen Colony-Forming Cell and the Haemopoietic Stem Cell." *Blood Cells* 4 (1-2): 7–25.
- Simmons, P J, J P Levesque, and A C Zannettino. 1997. "Adhesion Molecules in Haemopoiesis." *Baillière's Clinical Haematology* 10 (3): 485–505.
- Simmons, P J, and B Torok-Storb. 1991. "Identification of Stromal Cell Precursors in Human Bone Marrow by a Novel Monoclonal Antibody, STRO-1." *Blood* 78 (1): 55–62.
- Singaravelu, Kurinji, and Babu J Padanilam. 2009. "In Vitro Differentiation of MSC into Cells with a Renal Tubular Epithelial-like Phenotype." *Renal Failure* 31 (6): 492–502.
- Snykers, Sarah, Tamara Vanhaecke, Peggy Papeleu, Aernout Luttun, Yuehua Jiang, Yvan Vander Heyden, Catherine Verfaillie, and Vera Rogiers. 2006. "Sequential Exposure to Cytokines Reflecting Embryogenesis: The Key for in Vitro Differentiation of Adult Bone Marrow Stem Cells into Functional Hepatocyte-like Cells." *Toxicological Sciences* □: *An Official Journal of the Society of Toxicology* 94 (2): 330–41; discussion 235–9. doi:10.1093/toxsci/kfl058.
- Solchaga, Luis A, Kitsie Penick, John D Porter, Victor M Goldberg, Arnold I Caplan, and Jean F Welter. 2005. "FGF-2 Enhances the Mitotic and Chondrogenic Potentials of Human Adult Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cells." *Journal of Cellular Physiology* 203 (2): 398–409. doi:10.1002/jcp.20238.
- Steinert, Andre F, Steven C Ghivizzani, Axel Rethwilm, Rocky S Tuan, Christopher H Evans, and Ulrich Nöth. 2007. "Major Biological Obstacles for Persistent Cell-Based Regeneration of Articular Cartilage." *Arthritis Research & Therapy* 9 (3): 213. doi:10.1186/ar2195.
- Stock, Peggy, Sandra Brückner, Sabine Ebensing, Madlen Hempel, Matthias M Dollinger, and Bruno Christ. 2010. "The Generation of Hepatocytes from Mesenchymal Stem Cells and Engraftment into Murine Liver." *Nature Protocols* 5 (4): 617–27. doi:10.1038/nprot.2010.7.
- Stolzing, Alexandra, Natalie Coleman, and Andrew Scutt. 2006. "Glucose-Induced Replicative Senescence in Mesenchymal Stem Cells." *Rejuvenation Research* 9 (1): 31–35. doi:10.1089/rej.2006.9.31.
- Strotmeyer, Elsa S, Jane A Cauley, Trevor J Orchard, Ann R Steenkiste, and Janice S Dorman. 2006. "Middle-Aged Premenopausal Women with Type 1 Diabetes Have Lower Bone Mineral Density and Calcaneal Quantitative Ultrasound than Nondiabetic Women." *Diabetes Care* 29 (2): 306–11.
- Sun, Yu, Li Chen, Xin-guo Hou, Wei-kai Hou, Jian-jun Dong, Lei Sun, Kuan-xiao Tang, et al. 2007. "Differentiation of Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cells from Diabetic Patients into Insulin-Producing Cells in Vitro." *Chinese Medical Journal* 120 (9): 771–76.
- Tan, Sik-Loo, Raja Elina Ahmad, Tunku Sara Ahmad, Azhar M Merican, Azlina a Abbas, Wuey Min Ng, and Tunku Kamarul. 2012. "Effect of Growth Differentiation Factor 5 on the Proliferation and Tenogenic Differentiation Potential of Human Mesenchymal Stem Cells in Vitro." *Cells, Tissues, Organs* 196 (4): 325–38. doi:10.1159/000335693.
- Tang, Dong-Qi, Li-Zhen Cao, Brant R Burkhardt, Chang-Qi Xia, Sally A Litherland, Mark A Atkinson, and Li-Jun Yang. 2004. "In Vivo and in Vitro Characterization of Insulin-Producing Cells Obtained from Murine Bone Marrow." *Diabetes* 53 (7): 1721–32.
- Tang, Hai-Lin, Zhi-Gang Wang, Qiao Li, Hai-Tao Ran, Yuan-Yi Zheng, Jian-Li Ren, Zhi-Yu Ling, Ao Li, and Bowen Zhao. 2012. "Targeted Delivery of Bone Mesenchymal Stem Cells by Ultrasound Destruction of Microbubbles Promotes Kidney Recovery in Acute Kidney Injury." *Ultrasound in Medicine & Biology* 38 (4): 661–69. doi:10.1016/j.ultrasmedbio.2012.01.003.
- Thorpe, Stephen D, Conor T Buckley, Tatiana Vinardell, Fergal J O'Brien, Veronica A Campbell, and Daniel J Kelly. 2010. "The Response of Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cells to Dynamic Compression Following TGF-beta3 Induced Chondrogenic Differentiation." *Annals of Biomedical Engineering* 38 (9): 2896–2909. doi:10.1007/s10439-010-0059-6.

- Timper, Katharina, Dalma Seboek, Michael Eberhardt, Philippe Linscheid, Mirjam Christ-Crain, Ulrich Keller, Beat Müller, and Henryk Zulewski. 2006. "Human Adipose Tissue-Derived Mesenchymal Stem Cells Differentiate into Insulin, Somatostatin, and Glucagon Expressing Cells." *Biochemical and Biophysical Research Communications* 341 (4): 1135–40. doi:10.1016/j.bbrc.2006.01.072.
- Toma, Catalin, Mark F Pittenger, Kevin S Cahill, Barry J Byrne, and Paul D Kessler. 2002. "Human Mesenchymal Stem Cells Differentiate to a Cardiomyocyte Phenotype in the Adult Murine Heart." *Circulation* 105 (1): 93–98.
- Trzaska, Katarzyna A, Cecile C King, Ke-Yong Li, Eldo V Kuzhikandathil, Martha C Nowycky, Jiang-Hong Ye, and Pranela Rameshwar. 2009. "Brain-Derived Neurotrophic Factor Facilitates Maturation of Mesenchymal Stem Cell-Derived Dopamine Progenitors to Functional Neurons." *Journal of Neurochemistry* 110 (3): 1058–69. doi:10.1111/j.1471-4159.2009.06201.x.
- Tsai, Chih-Chien, Yann-Jang Chen, Tu-Lai Yew, Ling-Lan Chen, Jir-You Wang, Chao-Hua Chiu, and Shih-Chieh Hung. 2011. "Hypoxia Inhibits Senescence and Maintains Mesenchymal Stem Cell Properties through down-Regulation of E2A-p21 by HIF-TWIST." *Blood* 117 (2): 459–69. doi:10.1182/blood-2010-05-287508.
- Tuan, Rocky S, Genevieve Boland, and Richard Tuli. 2003. "Adult Mesenchymal Stem Cells and Cell-Based Tissue Engineering." *Arthritis Research & Therapy* 5 (1): 32–45.
- Verfaillie, CATHERINE M., PANKAJ Gupta, FELIPE Prosper, RANDY Hurley, BEVERLY Lundell, and RAVI Bhatia. 1999. "The Hematopoietic Microenvironment: Stromal Extracellular Matrix Components As Growth Regulators For Human Hematopoietic Progenitors." *Hematology (Amsterdam, Netherlands)* 4 (4): 321–33.
- Wagegg, Markus, Timo Gaber, Ferenz L Lohanatha, Martin Hahne, Cindy Strehl, Monique Fangradt, Cam Loan Tran, et al. 2012. "Hypoxia Promotes Osteogenesis but Suppresses Adipogenesis of Human Mesenchymal Stromal Cells in a Hypoxia-Inducible Factor-1 Dependent Manner." *PloS One* 7 (9): e46483. doi:10.1371/journal.pone.0046483.
- Wakitani, S, T Saito, and A I Caplan. 1995. "Myogenic Cells Derived from Rat Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells Exposed to 5-Azacytidine." *Muscle & Nerve* 18 (12): 1417–26. doi:10.1002/mus.880181212.
- Wang, Lei, Yuanliang Huang, Kefeng Pan, Xinquan Jiang, and Changsheng Liu. 2010. "Osteogenic Responses to Different Concentrations/ratios of BMP-2 and bFGF in Bone Formation." *Annals of Biomedical Engineering* 38 (1): 77–87. doi:10.1007/s10439-009-9841-8.
- Wang, Sainan, Jinquan Mu, Zhipeng Fan, Yan Yu, Ming Yan, Gang Lei, Chunbo Tang, et al. 2012. "Insulin-like Growth Factor 1 Can Promote the Osteogenic Differentiation and Osteogenesis of Stem Cells from Apical Papilla." *Stem Cell Research* 8 (3): 346–56. doi:10.1016/j.scr.2011.12.005.
- Wang, XiFeng, DeFeng Chi, GuanMin Su, Lin Li, and LiHua Shao. 2011. "Determination of Taurine in Biological Samples by High-Performance Liquid Chromatography Using 4-Fluoro-7-Nitrobenzofurazan as a Derivatizing Agent." *Biomedical and Environmental Sciences* □: BES 24 (5): 537–42. doi:10.3967/0895-3988.2011.05.013.
- Wang, Yongmei, Shigeki Nishida, Takeshi Sakata, Hashem Z Elalieh, Wenhan Chang, Bernard P Halloran, Steven B Doty, and Daniel D Bikle. 2006. "Insulin-like Growth Factor-I Is Essential for Embryonic Bone Development." *Endocrinology* 147 (10): 4753–61. doi:10.1210/en.2006-0196.
- Weissman, I L. 2000. "Translating Stem and Progenitor Cell Biology to the Clinic: Barriers and Opportunities." *Science (New York, N.Y.)* 287 (5457): 1442–46.
- Williams, Adam R, and Joshua M Hare. 2011. "Mesenchymal Stem Cells: Biology, Pathophysiology, Translational Findings, and Therapeutic Implications for Cardiac Disease." *Circulation Research* 109 (8): 923–40. doi:10.1161/CIRCRESAHA.111.243147.
- Woodbury, D, E J Schwarz, D J Prockop, and I B Black. 2000. "Adult Rat and Human Bone Marrow Stromal Cells Differentiate into Neurons." *Journal of Neuroscience Research* 61 (4): 364–70.
- Wu, Xiao-Hong, Cui-Ping Liu, Kuan-Feng Xu, Xiao-Dong Mao, Jian Zhu, Jing-Jing Jiang, Dai Cui, Mei Zhang, Yu Xu, and Chao Liu. 2007. "Reversal of Hyperglycemia in Diabetic Rats by Portal Vein Transplantation of Islet-like Cells Generated from Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells." *World Journal of Gastroenterology* □: WJG 13 (24): 3342–49.
- Yamawaki-Ogata, Aika, Xianming Fu, Ryotaro Hashizume, Kazuro L Fujimoto, Yoshimori Araki, Hideki Oshima, Yuji Narita, and Akihiko Usui. 2014. "Therapeutic Potential of Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cells in Formed Aortic Aneurysms of a Mouse Model." *European Journal of Cardio-Thoracic Surgery* □: Official Journal of the European Association for Cardio-Thoracic Surgery 45 (5): e156–65. doi:10.1093/ejcts/ezu018.

- Yang, Guang, Benjamin B Rothrauff, Hang Lin, Riccardo Gottardi, Peter G Alexander, and Rocky S Tuan. 2013. "Enhancement of Tenogenic Differentiation of Human Adipose Stem Cells by Tendon-Derived Extracellular Matrix." *Biomaterials* 34 (37): Elsevier Ltd: 9295–9306. doi:10.1016/j.biomaterials.2013.08.054.
- Yang, Chang-Ching, Yang-Hsin Shih, Miao-Hwa Ko, Shao-Yun Hsu, Henrich Cheng, and Yu-Show Fu. 2008. "Transplantation of Human Umbilical Mesenchymal Stem Cells from Wharton's Jelly after Complete Transection of the Rat Spinal Cord." *PloS One* 3 (10): e3336. doi:10.1371/journal.pone.0003336.
- Yang, Yue-Jin, Hai-Yan Qian, Ji Huang, Jian-Jun Li, Run-Lin Gao, Ke-Fei Dou, Guo-Sheng Yang, James T Willerson, and Yong-Jian Geng. 2009. "Combined Therapy with Simvastatin and Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cells Increases Benefits in Infarcted Swine Hearts." *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 29 (12): 2076–82. doi:10.1161/ATVBAHA.109.189662.
- Yasuhara, Takao, and Isao Date. 2007. "Intracerebral Transplantation of Genetically Engineered Cells for Parkinson's Disease: Toward Clinical Application." *Cell Transplantation* 16 (2): 125–32.
- Yoshimura, Hideya, Takeshi Muneta, Akimoto Nimura, Akiko Yokoyama, Hideyuki Koga, and Ichiro Sekiya. 2007. "Comparison of Rat Mesenchymal Stem Cells Derived from Bone Marrow, Synovium, Periosteum, Adipose Tissue, and Muscle." *Cell and Tissue Research* 327 (3): 449–62. doi:10.1007/s00441-006-0308-z.
- Young, R G, D L Butler, W Weber, A I Caplan, S L Gordon, and D J Fink. 1998. "Use of Mesenchymal Stem Cells in a Collagen Matrix for Achilles Tendon Repair." *Journal of Orthopaedic Research* □: Official Publication of the Orthopaedic Research Society 16 (4): 406–13. doi:10.1002/jor.1100160403.
- Yuan, L-Q, H Xie, X-H Luo, X-P Wu, H-D Zhou, Y Lu, and E-Y Liao. 2006. "Taurine Transporter Is Expressed in Osteoblasts." *Amino Acids* 31 (2): 157–63. doi:10.1007/s00726-005-0313-7.
- Yuan, Shaohui, Qi Pan, Chun Jiang Fu, and Zhenggang Bi. 2011. "Effect of Growth Factors (BMP-4/7 & bFGF) on Proliferation & Osteogenic Differentiation of Bone Marrow Stromal Cells." *The Indian Journal of Medical Research* 138 (July): 104–10.
- Yuan, Shaohui, Qi Pan, Wei Liu, Binqi Wu, Xiguang Han, and Zhenggang Bi. 2011. "Recombinant BMP 4/7 Fusion Protein Induces Differentiation of Bone Marrow Stem Cells." *Journal of Cellular Biochemistry* 112 (10): 3054–60. doi:10.1002/jcb.23230. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21678476>.
- Zhang, Yi, Vedavathi Madhu, Abhijit S Dighe, James N Irvine, and Quanjun Cui. 2012. "Osteogenic Response of Human Adipose-Derived Stem Cells to BMP-6, VEGF, and Combined VEGF plus BMP-6 in Vitro." *Growth Factors (Chur, Switzerland)* 30 (5): 333–43. doi:10.3109/08977194.2012.720574.
- Zhou, Chenhui, Xue Zhang, Liangliang Xu, Tie Wu, Liao Cui, and Daohua Xu. 2014. "Taurine Promotes Human Mesenchymal Stem Cells to Differentiate into Osteoblast through the ERK Pathway." *Amino Acids*, March. doi:10.1007/s00726-014-1729-8.
- Zhou, Shuanhu. 2011. "TGF-B Regulates B-Catenin Signaling and Osteoblast Differentiation in Human Mesenchymal Stem Cells." *Journal of Cellular Biochemistry* 112 (6): 1651–60. doi:10.1002/jcb.23079.
- Zhu, Hui, Aizhen Yang, Jinfeng Du, Donghui Li, Mei Liu, Fei Ding, Xiaosong Gu, and Yan Liu. 2014. "Basic Fibroblast Growth Factor Is a Key Factor That Induces Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells towards Cells with Schwann Cell Phenotype." *Neuroscience Letters* 559 (January). Elsevier Ireland Ltd: 82–87. doi:10.1016/j.neulet.2013.11.044.
- Zvaifler, N J, L Marinova-Mutafchieva, G Adams, C J Edwards, J Moss, J A Burger, and R N Maini. 2000. "Mesenchymal Precursor Cells in the Blood of Normal Individuals." *Arthritis Research* 2 (6): 477–88. doi:10.1186/ar130.